

In Vitro-Untersuchungen
über den Stoffwechsel von
Testosteron und 5α -Dihydrotestosteron
im menschlichen Endometrium-
und Endometriumkarzinomgewebe

Antonie Salger

1900



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548319_0059

Aus der Medizinischen Klinik II im Klinikum Großhadern
der Universität München

Direktor: Professor Dr.med.G.PAUMGARTNER

IN VITRO-UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN STOFFWECHSEL VON
TESTOSTERON UND 5 α -DIHYDROTESTOSTERON IM MENSCHLICHEN
ENDOMETRIUM- UND ENDOMETRIUMKARZINOMGEWEBE

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Antonie S A L G E R
München

1980

Druck: Hieronymus Buchreproduktions GmbH München
Einband: Buchbinderei Robert Ketterer München



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr.med.H.J.KARL

Mitberichterstatter: Professor Dr.med.G.PAUMGARTNER

Dekan: Professor Dr.med.W.SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 22.Mai 1980

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Professor Dr.med.H.J.KARL in der Zeit von August 1976 bis Oktober 1979 an der Medizinischen Klinik II im Klinikum Großhadern der Universität München durchgeführt.

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr.med.G.PAUMGARTNER, daß ich in seiner Klinik arbeiten durfte.

Für die großzügige Unterstützung und Förderung meiner Arbeit danke ich Herrn Professor Dr.med.H.J.KARL.

Herrn Dr.med.P.UNTERBURGER danke ich ganz besonders für seine Hilfsbereitschaft und für seine wertvollen Ratschläge.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr.med.K.RICHTER von der Universitätsfrauenklinik im Klinikum Großhadern für die Bereitstellung der Gewebeproben.

Bei Herrn Dr.med.W.EIERMANN von der Universitätsfrauenklinik möchte ich mich für seine freundliche Unterstützung bei der Gewebebegewinnung und für die Überlassung seines Labors, in dem ich einen Teil meiner Arbeit durchführte, ganz besonders herzlich bedanken.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einführung in die Problematik	1
2. Fragestellung	9
3. Methode	10
3.1 Reagenzien	10
3.2 Apparate	13
3.3 Versuchsdurchführung	14
3.3.1 Gewebegewinnung	14
3.3.2 Inkubation	14
3.3.3 Extraktion und Reinigung	15
3.3.4 Gaschromatographie	16
3.3.5 Berechnung	17
3.4 Beurteilung der Methode	19
4. Ergebnisse	23
4.1 In vitro-Abbau und Metabolismus von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron (5 α -DHT) im menschlichen Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe	23
4.1.1 Abbau von Testosteron und 5 α -DHT durch Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe	23
4.1.2 Metabolismus von Testosteron durch Endometriumkarzinomgewebe	29
4.1.3 Metabolismus von Testosteron durch Endometriumgewebe	34

	Seite
4.1.4 Metabolismus von 5 α -DHT durch Endometriumkarzinomgewebe	38
4.1.5 Metabolismus von 5 α -DHT durch Endometriumgewebe	43
4.2 17-Keto- und 17-Hydroxysteroido beim Testosteron- und 5 α -DHT-Stoffwechsel	48
4.2.1 Testosteronstoffwechsel	48
4.2.2 5 α -DHT-Stoffwechsel	48
4.3 5 α - und 5 β -hydrierte Metaboliten beim Testosteron- und 5 α -DHT-Stoffwechsel	51
5. Besprechung der Ergebnisse	54
6. Zusammenfassung	62
7. Literaturverzeichnis	65

1. Einführung in die Problematik

"Die Reduktion von Testosteron in Androstendion scheint ubiquitär möglich zu sein." (1) Diese Aussage von J.Tamm wird bestätigt durch zahlreiche Untersuchungen über den Testosteronstoffwechsel in extrahepatischen Geweben.

Erstmals untersuchten 1954 Wotiz et al. (2) den Testosteronmetabolismus in verschiedenen nichtmalignen (Prostata, Endometrium, Myometrium, Darm, Haut, Brust) und malignen (Brust, Prostata, Blase, Zervix) menschlichen Geweben. Sie inkubierten das bei Operationen gewonnene Gewebe 3 Std. bei 37,5°C in einem Krebs-Ringer-Phosphatpuffer (pH=7,4), dem 5mg Testosteron zugesetzt war. Nach der Inkubation wurden die Proben homogenisiert, extrahiert und der Anteil an metabolisiertem Testosteron papierchromatographisch bestimmt. Wotiz und seine Mitarbeiter fanden in allen untersuchten Geweben eine Metabolisierung von Testosteron in Androstendion. Die Umwandlungsrate, bezogen auf den Desoxyribonukleinsäuregehalt, war am höchsten in nichtmalignem Hautgewebe und in malignem Brustgewebe. Das untersuchte Endometriumgewebe (Endometriose) zeigte nur eine geringe Metabolisierung zu Androstendion.

Auch die Arbeit von H.Breuer et al. (3) bestätigt die Aussage von der ubiquitären Möglichkeit der Reduktion von Testosteron in Androstendion. Die Gruppe fand bei allen untersuchten Geweben (Mammarkarzinome, benigne Mastopathien, Testes, Ovarien, Prostata-Karzinom, Prostata-Hypertrophien, Schilddrüsen-Adenome, Bronchial-Karzinome) eine Umwandlung von Testosteron in Androstendion. Der Testosteronumsatz betrug im Mittel zwischen 15 und 26 %.

Die höchsten Umwandlungsraten wurden auch bei diesen Untersuchungen bei den Mamma-Karzinomen beobachtet. Außer Androstendion wurden auch noch die übrigen Δ^4 -3-Ketosteroiden und die nicht identifizierbaren Metaboliten quantitativ bestimmt. Dabei stellte sich heraus, daß die nichtidentifizierten Metaboliten den größten Anteil unter den Stoffwechselprodukten von Testosteron hatten.

R.D.Bulbrook et al. untersuchten bei Frauen mit fortgeschrittenem Brustkrebs, die weder auf Adrenalectomie noch auf Hypophysektomie ansprachen (4) und bei Frauen mit frühem Brustkrebs (5;6) das Ausscheidungsmuster der Steroide im Urin, und verglichen es mit dem von Frauen ohne Krebs. Die Ergebnisse ihrer Untersuchungen zeigten, daß sowohl Frauen mit fortgeschrittenem Brustkrebs als auch 2/3 der Frauen mit Frühkarzinom signifikant weniger 17-Ketosteroiden (Androsteron, Ätiocholanolon) in Relation zu den 17-Hydroxysteroiden ausschieden als Frauen ohne Brustkrebserkrankung. Diese Beobachtungen veranlaßten Bulbrook und seine Gruppe zu der Hypothese, daß bei Brustkrebspatienten eine Störung im Kontrollmechanismus der NNR-Funktion vorliege.

Gestützt auf diese Annahme und auf eigene Untersuchungen über einige klinische und epidemiologische Aspekte der NNR-Östrogene und ihrer möglichen Beziehung zum Mamma- und Endometriumkarzinom (7;8), untersuchten F.de Waard et al. die Steroidhormonausscheidung im Urin bei Frauen mit Endometriumkarzinom. (9) Sie untersuchten nur Frauen in der Postmenopause weil in dieser Phase der größere Teil der ausgeschiedenen Östrogene von der Nebennierenrinde stammt.

Drei verschiedene Gruppen wurden in die Untersuchung einbezogen: gesunde Frauen, übergewichtige Diabetikerinnen und Patientinnen mit Endometriumkarzinom. Folgende Steroide wurden gaschromatographisch bestimmt: Östrogene (Östron, Östradiol, Östriol), Dehydroepiandrosteron, Ätiocholanolon und Androsteron. Die Patientinnen mit Karzinom zeigten eine statistisch signifikante Abnahme der Ätiocholanolon-Ausscheidung im Vergleich mit der Normalgruppe. Diese Ergebnisse von de Waard im Vergleich mit den Resultaten von Bulbrook (5) bestätigten die Möglichkeit einer gemeinsamen Anomalie der Nebennierenrindensteroidproduktion bei Patientinnen mit Mammakarzinom und bei Frauen mit Endometriumkarzinom.

Auch die Arbeit von S.Sall und A.Calanog (10) erbrachte ähnliche Ergebnisse: Sie untersuchten die Steroidausscheidung im Urin

- a) bei Patientinnen mit Postmenopausenblutung ohne malignes Endometrium,
- b) bei Frauen mit zystischer und adenomatöser Endometriumhyperplasie und
- c) bei Patientinnen mit Endometriumkarzinom.

Im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (gesunde Frauen in der Postmenopause) fanden sie eine signifikante Abnahme der Androsteronausscheidung sowohl bei der Gruppe mit hyperplastischem Endometrium als auch bei der Gruppe mit Endometriumkarzinom.

Eine signifikante Abnahme der Ätiocholanolonausscheidung stellten sie nur bei der Hyperplasiegruppe fest, während die Ausscheidungsraten der Kontroll- und Karzinomgruppe ähnlich waren.

Die Einführung von exakten Methoden zur Messung des Plasmaspiegels und der Produktionsrate der ver-

schiedenen Androgene und die Messung der Umwandlungsrate von Androgenen zu Östrogenen haben es der Gruppe von A.Calanog (11) ermöglicht, weitere Untersuchungen über den möglicherweise gestörten Androgenmetabolismus beim Endometriumkarzinom durchzuführen.

Die Untersuchungen über Plasmaspiegel, metabolische Clearancerate und Produktionsrate von Testosteron, sowie über die Umwandlung von Testosteron zu Androstendion führten sie an 11 Patientinnen mit abnormaler Uterusblutung durch, bei denen durch fraktionierte Kürettage ein Endometriumkarzinom diagnostiziert wurde. Die Kontrollgruppe bestand aus 5 Patientinnen in der Postmenopause.

Sie injizierten den Versuchsgruppen zunächst 4 oder 6 $\mu\text{Ci}(1,2\text{-}^3\text{H})$ -Testosteron und verabreichten anschließend eine intravenöse Infusion von 8 oder 12 $\mu\text{Ci}(1,2\text{-}^3\text{H})$ -Testosteron, gelöst in 50 ml 8 %igem Äthanol in Kochsalzlösung. 105, 120 bzw. 135 Minuten nach der Anfangsinjektion wurden den Versuchspersonen 40 ml Blut entnommen. Die Untersuchungen erbrachten folgende Ergebnisse: Beim Plasmatestosteronspiegel, bei der metabolischen Clearancerate von Testosteron und bei der Produktionsrate von Testosteron ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Karzinom- und Kontrollgruppe.

Jedoch ergab die Untersuchung der Umwandlungsrate von Testosteron zu Androstendion für die Karzinomgruppe eine statistisch niedrigere Rate im Vergleich zur Kontrollgruppe(Postmenopause):

Karzinomgruppe: 0.02 ± 0.01 (S.D.)

Kontrollgruppe: 0.04 ± 0.01 (S.D.)

Diese Ergebnisse unterstützten A.Calanog und seine Gruppe in der Annahme, daß das Endometriumkarzinom mit einer Endokrinopathie verbunden sein müsse.

Für die Metabolisierung von Testosteron zu Androstendion ist u.a. auch das Enzym 17 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (17 β -HSD) von Bedeutung. Studien über dieses Enzym, sein Vorkommen und seine Variationen im menschlichen Endometrium und im Endometriumkarzinom führten K.Pollow et al. durch. (12)

Die spezifische Aktivität von 17 β -HSD wurde in den subzellulären Fraktionen von normalem Endometrium (verschiedene Phasen des menstruellen Zyklus) und von Endometriumkarzinom (verschiedene Differenzierungsstadien) gemessen. Das untersuchte Gewebe wurde bei Abrasionen oder Hysterektomien gewonnen.

K.Pollow et al. stellten fest, daß sowohl im Karzinom- als auch im Normalgewebe die Hauptaktivität der 17 β -HSD in den Mitochondrien und Mikrosomen lokalisiert ist.

Im normalen Endometrium ist die 17 β -HSD-Aktivität abhängig von der Zyklusphase. Sie ist am höchsten in der früh-sekretorischen Phase.

Die Aktivität im Endometriumkarzinom ist abhängig vom Differenzierungsgrad. Im gut differenzierten Karzinomgewebe ist die Aktivität um den Faktor 10 und mehr größer als im undifferenzierten Gewebe.

U.Hoffmann, H.Maass und P.Lisboa untersuchten den Testosteronstoffwechsel des Rattenuterus in vitro (13) und fanden auch dabei 17 β -HSD-Aktivität.

Sie verwendeten Uterushomogenate von erwachsenen Ratten, die 3 Tage zuvor ovariectomiert worden waren.

Diese Homogenate wurden mit 500 μ g und 0.2 μ Ci (4-¹⁴C)-Testosteron bei 37°C 120 Minuten lang unter Zusatz von verschiedenen Cofermenten inkubiert.

Die Reinigung der Extrakte erfolgte an Amberlite XAD-2 Säulen. Die Testosteronmetaboliten wurden durch verschiedene Chromatographieverfahren isoliert:

Gel-Säulenchromatographie mit Sephadex LH-20 und Dünnschichtchromatographie mit Kieselgel. Mit Hilfe der radioaktiven Gaschromatographie und der Bestimmung der relativen spezifischen Aktivität in den Eluatn der Säulenchromatographie wurden folgende fünf Metaboliten des Testosteronstoffwechsels identifiziert:

Δ^4 -Androstendion (4-androstene-3,17-dione)

5 α -Dihydrotestosteron (17 β -hydroxy-5 α -androstan-3-one)

3 α -5 α -Androstandiol (5 α -androstane-3 α ,17 β -diol)

zwei Allylalkohole: 4-androstene-3 β ,17 β -diol

4-androstene-3 α ,17 β -diol

Außerdem fanden sie geringe Mengen von 5 α -Androstandion (5 α -androstane-3,17-dione) und zwei nicht identifizierte polare C₁₉O₃-Steroide.

Aus diesen Ergebnissen schlossen Hoffmann et al. auf die Anwesenheit von 17 β -, 3 α - und 3 β -Hydroxysteroid-Oxidoreduktasen und von geringen Mengen 5 α -Reduktase im Uterusgewebe von Ratten.

Die geringe Metabolisierungsrate von 5 α -Dihydrotestosteron verweist auf eine geringe Affinität der Androgenrezeptoren im Uterusgewebe gegenüber 5 α -Dihydrotestosteron im Gegensatz zu Testosteron.

Betrachtet man diese verschiedenartigen Untersuchungen des Androgenmetabolismus im Endometrium und Endometriumkarzinom zusammenfassend, so ergibt sich folgendes:

Beim Endometriumkarzinom, wie auch beim Mammakarzinom, scheint eine endokrinologische Störung vorzuliegen, die sich in einer erniedrigten Ausscheidung von Ätiocholanolon im Urin bzw. in einer niedrigeren Umwandlungsrate von Testosteron zu Androstendion im Plasma ausdrückt.

Im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe ist

17 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase vorhanden, ein Enzym, das für die Metabolisierung von Testosteron zu Androstendion und umgekehrt notwendig ist. Durch die Identifizierung verschiedener Testosteron-metaboliten (Δ^4 -Androstendion, 5 α -DHT, 3 α -5 α -Androstandiol etc.) im Rattenuterus, konnte auf das Vorhandensein von 17 β -, 3 α - und 3 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenasen und 5 α -Reduktasen in diesem Gewebe geschlossen werden.

Beim Testosteron, das vorwiegend in der Leber, aber auch in extrahepatischen Geweben inaktiviert wird, unterscheidet man heute einen Abbau zu 17-Keto- und 17-Hydroxysteroiden.

Beim Abbau zu 17-Ketosteroiden wird die 17 β -Hydroxygruppe des Testosterons durch die 17 β -HSD zur 17-Keto-Gruppe oxydiert. Es entsteht Androstendion. Dieses wird weiter metabolisiert durch die Reduzierung der C₄-Doppelbindung im Ring A. Es entstehen 2 Stereoisomere: 5 α - und 5 β -Androstendion. Als nächster Schritt folgt die Reduzierung der Ketogruppe an C₃, dabei entstehen die Metaboliten Androsteron und Ätiocholanolon.

Beim Abbau zu 17-Hydroxysteroiden wird die 17 β -Hydroxygruppe nicht oxydiert. Die Metabolisierung findet nur am Ring A statt. Dabei entstehen folgende Produkte: 5 α - und 5 β -DHT, 5 α -3 α -Androstandiol, 5 α -3 β -Androstandiol und 5 β -3 β -Androstandiol. (14;15)

Einen Überblick über die bisher bekannten Stoffwechselwege und -produkte des Testosterons gibt Bild 1:

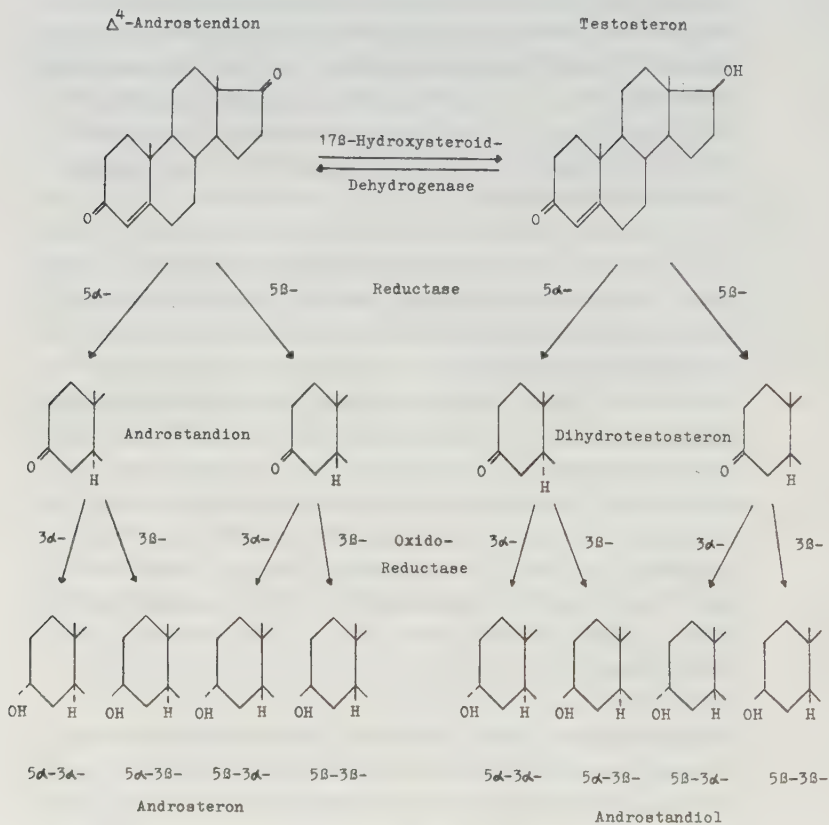


Bild 1: Schema des Testosteronstoffwechsels

2. Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit haben wir den in vitro-Stoffwechsel von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron im menschlichen Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe untersucht, und folgende Fragen zu beantworten versucht:

- A) Findet in menschlichem Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe ein Stoffwechsel von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron statt ?
- B) Welche Metaboliten entstehen beim Stoffwechsel von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron im menschlichen Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe ?
- C) Zu welchen Teilen erfolgt der Abbau von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe zu 17-Keto- bzw. 17-Hydroxysteroiden ?
- D) Entstehen beim Stoffwechsel von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe vorwiegend 5 α - oder 5 β -hydrierte Metaboliten ?

3. Methode

3.1 Reagenzien

(1,2-³H)-Testosteron (spez. Akt.: 277 Ci/ Mol)
(1,2-³H)-Dihydrotestosteron (spez. Akt.: 46 Ci/ Mol)

Die radioaktiv markierten Steroide wurden von der Firma New England Nuclear Corporation (NEN), Niederlassung Dreieichenhain bei Frankfurt/Main bezogen.

Krebs-Ringer-Stammlösung:

NaCl	9.0 g	p.a. Fa. Merck, Darmstadt
KCl	11.5 g	"
CaCl ₂ ·(H ₂ O) ₂	16.1 g	"
MgCl ₂ ·(H ₂ O) ₂	31.3 g	"

Diese Substanzen werden mit Aqua dest. auf 1000 ml aufgefüllt.

Phosphatpuffer:

Na₂HPO₄·(H₂O)₂ 17.8 g p.a. Fa. Merck, Darmstadt
900 ml Aqua dest. zugeben, dann mit etwa 20 ml 1n HCl einen pH von 7.4 einstellen und auf 1000 ml auffüllen.

Die Inkubationslösung wird gemischt aus
25.30 ml Stammlösung und
4.70 ml Phosphatpuffer

Zu je 9 ml Inkubationslösung werden folgende Enzyme,
Cofermente und D-Glukose zugesetzt:

NAD	6.03 µMol	Reinheitsgrad II
NADH	5.64 µMol	"
NADP	5.09 µMol	"
D-Glukose-6-Phosphat	19.70 µMol	

D-Glukose-6-Phosphat-

Dehydrogenase	1 E/ml	Reinheitsgrad II
D-Glukose 50 %	300 µMol	

Diese Substanzen wurden mit Ausnahme der D-Glukose von der Fa. Boehringer, Mannheim bezogen; die D-Glukose aus der Apotheke der Universitätskliniken, München. Der Versuchsansatz erfolgte nach den Angaben von R.C.Northcutt. (16)

Magnesiumtrisilikat (Florisil), von Fa. Serva, Heidelberg, Korngröße: 60-100 mesh/0.15-0.25 mm

Aluminiumoxyd 90 stand. Aktivitätsstufe II-III
Fa. Merck, Darmstadt

Silylierungsmittel:

Pyridin	0.02 ml	Fa. Merck, Darmstadt
Hexamethyldisilazan	0.20 ml	Fa. Schuchardt, München
Trimethylchlorsilan	0.02 ml	Fa. Serva, Heidelberg

Die Substanzen wurden in dieser Reihenfolge gemischt.

Säulenmaterial zur Gaschromatographie:

1 % Silicon XE 60, Korngröße: 100/120 mesh auf Gaschrom Q
Fa. Beckmann, München

Szintillationsmischung:

2-5-Diphenyl-oxazol (PPO)	4.0 g
1,4-bis-(4-Methyl-5-Phenyloxazol)-	
Benzene (POPOP)	0.2 g
Naphtalin	50.0 g
Äthylenglykoll	20.0 g
Methanol	100.0 ml
Dioxan	826.0 ml

Diese Substanzen wurden von der Fa. Carl Roth, Karlsruhe bezogen.

Steroid-Reinsubstanzen:

5 α -Androstan-3 α ,17 β -diol	=	5 α -3 α -Androstandiol
	=	5 α -3 α -Adiol
5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol	=	5 β -3 α -Androstandiol
	=	5 β -3 α -Adiol
5 α -Androstan-3 β ,17 β -diol	=	5 α -3 β -Androstandiol
	=	5 α -3 β -Adiol
5 α -Androstan-3 α -ol-17-on	=	5 α -3 α -Androsteron
	=	Androsteron
5 β -Androstan-3 α -ol-17-on	=	5 β -3 α -Androsteron
	=	Ätiocholanolon
5 β -Androstan-17 β -ol-3-on	=	5 β -Dihydrotestosteron
	=	5 β -DHT
5 α -Androstan-17 β -ol-3-on	=	5 α -Dihydrotestosteron
	=	5 α -DHT
Androst-4-en-17 α -ol-3-on	=	Epitestosteron
	=	e-T
Androst-4-en-17 β -ol-3-on	=	Testosteron
	=	T
5 β -Androstan-3,17-dion	=	5 β -Androstandion
	=	5 β -Adion
5 α -Androstan-3,17-dion	=	5 α -Androstandion
	=	5 α -Adion
Androst-4-en-3,17-dion	=	Δ^4 -Androstendion
	=	Androstendion

3.2 Apparate

Schüttelthermostat Fa.B.Braun, Melsungen

Homogenisator nach Potter/Elevhejm: Typ 719, Fa.B.Braun
Melsungen

Gaschromatograph, Modell 7600/7800 Fa. Packard

Gasfraktionskollektor, Modell 850 Fa. Packard

Flüssigszintillationsspektrometer, Betaszint BF 5000
Fa. Berthold, Wildbad

Hamiltonspritze: Modell CR 700-20
Fa. Hamilton & Co., Whittier, Californien, USA

Pasteurpipetten: Ø 0.5 cm, Länge 10 cm, No.: H 55669
Fa. Harshaw Chemie N.V., Utrecht, Holland
Die Pipetten werden mit 0.6 g Florisil bzw. mit
1.0 g Aluminiumoxyd gefüllt und als kleine Säulen
zur Adsorptionsextraktion bzw. zur Reinigung der
Extrakte verwendet.

Erlenmeyerkolben, 25 ml

Rechensystem: Diehl-alphatronic, Modell 332

3.3 Versuchsdurchführung

3.3.1 Gewebebegewinnung

Sowohl das Endometrium- als auch das Endometriumkarzinomgewebe wurde uns freundlicherweise von der II. Universitätsfrauenklinik München (Direktor Prof. K.Richter) zur Verfügung gestellt.

Das Endometriumgewebe wurde ausschließlich bei Hysterektomien gewonnen.

Das Karzinomgewebe wurde teils durch fraktionierte Abrasio, durchgeführt vor Radiumeinlagen, teils bei Operationen gewonnen. Jedes Gewebe wurde vom Pathologischen Institut der Universität München (Vorstand Prof.M.Eder) histologisch untersucht.

Das für die Inkubation bestimmte Gewebe wurde sofort nach Entnahme in eisgekühlte Pufferlösung (s.S.10) gegeben, mit dieser mehrmals gewaschen, und dort bis zur Inkubation (ca. 10 min) aufbewahrt.

3.3.2 Inkubation

Für die Versuchsansätze wurden $0.06 \mu\text{g}$ ($1,2\text{-}^3\text{H}$)-Testosteron ($0.22 \cdot 10^{-9} \text{Mol}$), gelöst in 0.05 ml Äthanol, und $0.40 \mu\text{g}$ ($1,2\text{-}^3\text{H}$)-Dihydrotestosteron ($15 \cdot 10^{-9} \text{Mol}$), gelöst in 0.06 ml Äthanol, in die Inkubationsgefäße (Erlenmeyerkolben) pipettiert. Nachdem das Äthanol an der Luft abgedampft war, wurden zu jedem Ansatz 3 ml Inkubationslösung mit Cofermenten, Enzymen und D-Glukose (s.S.10 u. 11) zugegeben.

Das in eisgekühlter Phosphatpufferlösung aufbewahrte Gewebe wurde auf Filterpapier grob getrocknet, je 100 mg abgewogen, mit dem Messer grob zerkleinert und dem Inkubationsmedium zugesetzt. Anschließend wurden die Ansätze im verschlossenen Erlenmeyerkolben

2 Stunden bei 37°C im Schüttelthermostat inkubiert. Jedem Ansatz mit Endometrium- bzw. Endometriumkarzinomgewebe lief ein Versuchsansatz ohne Gewebe als Leerwert parallel.

Nach 2 Stunden wurde die Inkubation durch Zugabe von 10 ml Aqua dest. unterbrochen. Das Inkubat wurde in Plastikfläschchen umgefüllt und bis zur Weiterverarbeitung bei -30°C tiefgefroren.

3.3.3 Extraktion und Reinigung

Nach dem Auftauen wurden die Versuchsansätze homogenisiert. Das Homogenat wurde mit Aqua dest. auf 20 ml aufgefüllt und es wurden je 12.5 µg, gelöst in 0.1 ml Äthanol, der auf S.12 aufgeführten, unmarkierten Steroid-Reinsubstanzen zugegeben.

Nun wurde das Homogenat zur Adsorptionsextraktion auf eine mit Aqua dest. angefeuchtete Florisilsäule gegeben. Diese Extraktion erfolgte nach den Angaben von M. Wiedemann et al. (17)

Nach dem Durchlauf des Homogenates wurde das Florisil in der Säule mit Stickstoff getrocknet und anschließend die an das Florisil gebundenen Steroide mit 5 x 1 ml Äthanol eluiert. Das Eluat wurde gereinigt, indem es im Anschluß an die Eluierung über eine Al₂O₃-Säule geleitet wurde. Das gereinigte Eluat wurde in Spitzgläsern aufgefangen und wiederum unter Stickstoff im Wasserbad bei 37°C getrocknet.

Nach vollständiger Trocknung wurde dem Extrakt 0.24 ml des Silylierungsmittels (s.S.11) zugegeben. (18) Das Silylierungsmittel wurde nach ca. 12-stündiger Reaktionszeit bei Zimmertemperatur mit Stickstoff abgeblasen und der Extrakt in 50 µl iso-Octan gelöst.

3.3.4 Gaschromatographie

Bedingungen der Gaschromatographie:

Säulenlänge: 9 ft, innerer $\varnothing$ 2.5 mm

Säulentemperatur: temperaturprogrammiert, 180-225°C,
Temperaturerhöhung 1.5°C/min

Für die Chromatographie wurden 5 μ l des silylierten Extrakts mit der Hamiltonspritze auf die 1 %-ige XE 60-Säule gespritzt. Dieselbe Extraktmenge wurde zur direkten Radioaktivitätsmessung in ein Meßgläschen gegeben.

Nach dem Säulendurchlauf wurde das Trägergas (nachgereinigter Stickstoff) und die in ihm enthaltenen gasförmigen Steroide mit einem Gassplitter im Verhältnis 1 : 5 geteilt.

1/6 des Gases wurde dem Flammenionisationsdetektor zugeleitet, dieser registrierte anhand der Retentionszeit und der Quantität die zugesetzten, nicht radioaktiv markierten Steroide.

Die übrigen 5/6 des Gasgemisches wurden dem Gasfraktionskollektor zugeführt und die im Trägergas enthaltenen Steroide mittels der Massenpeaks des unmarkierten Standards getrennt und an Watte in Glasröhrchen kondensiert.

Um die Aktivität der einzelnen Fraktionen messen zu können, wurde die Watte einzeln aus den Glasröhrchen direkt in die Meßgläschen gestoßen und mit 10 ml der Szintillationsflüssigkeit nachgespült.

Die Aktivitätsmessung erfolgte im Flüssigkeits-szintillations-Spektrometer (Betaszint BF 5000).

3.3.5 Berechnung

Aus der Summe der ^3H -Impulse in den einzelnen Zonen des Kontrollansatzes wurde die prozentuale Verteilung der ^3H -Impulse in den einzelnen Fraktionen berechnet.

Aus der Summe der ^3H -Impulse in den einzelnen Fraktionen des Hauptwertes (Ansatz mit Endometrium- bzw. Endometriumkarzinomgewebe) wurde die prozentuale Verteilung der ^3H -Impulse errechnet.

Dann erfolgte eine Korrektur der Werte des Hauptwertes mit denen des Kontrollansatzes und es wurde der Stoffwechsel von ^3H -Testosteron bzw. von ^3H -Dihydrotestosteron zu freien Metaboliten kalkuliert.

Die Berechnungen wurden mit dem Rechensystem Diehl-alphatronic, Modell 332 durchgeführt.

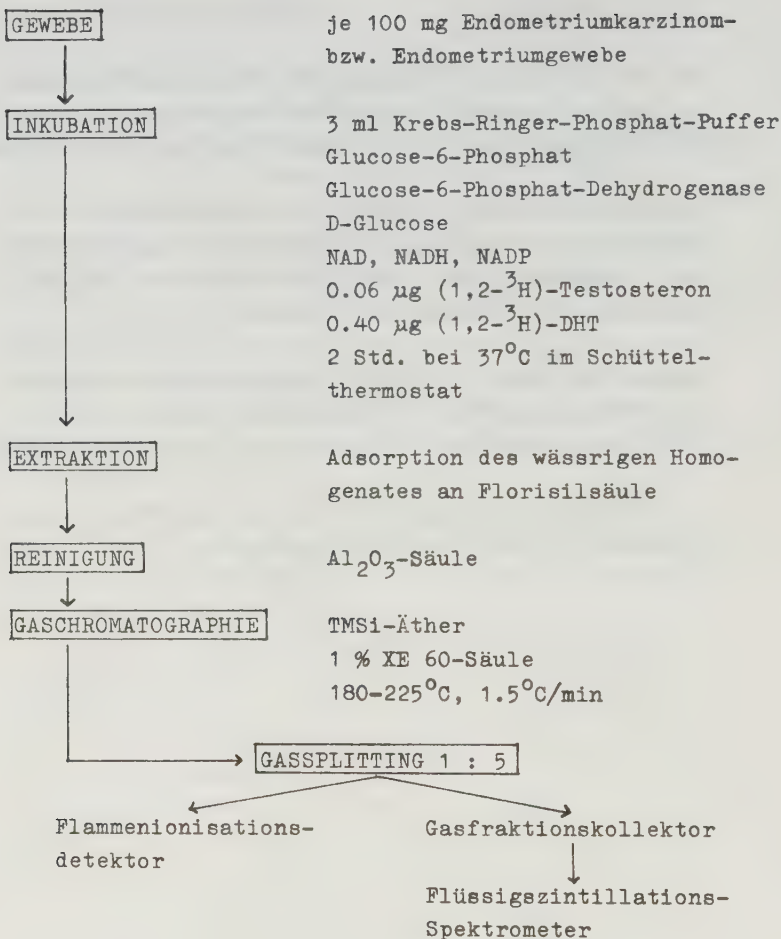


Bild 2: Schema des methodischen Vorgehens

3.4 Beurteilung der Methode

3.4.1 Gewebe

Das verwendete Gewebe wurde innerhalb von 10 Minuten nach der Entnahme bei Operationen oder Kürretagen zur Inkubation gebracht. Gleichzeitig entnommene, benachbarte Gewebsstücke wurden histologisch untersucht. Die Kurzbefunde dieser Untersuchungen sind in Tabelle 1-4 zusammengestellt. Das von uns verarbeitete Gewebe wurde aus methodischen Gründen nicht direkt histologisch untersucht. Wir führten auch keine Zellaktivitätsbestimmungen durch. Daraus können sich vor allem bei den Untersuchungen mit Karzinomgewebe Abweichungen in der Stoffwechselaktivität ergeben.

3.4.2 Gaschromatographie

Die Gaschromatographie hat sich zur Trennung von C-19-Steroiden hervorragend bewährt. (19)
Besonders gut lassen sich Trimethylsilylilätherderivate der Androgene trennen. (20;18)

In Abhängigkeit von Säulenmaterial (1 % XE 60 auf Gaschrom Q), Säulenlänge (9 ft), Säulentemperatur (temperaturprogrammiert 180-225°C, Temperaturerhöhung 1.5°C/min), Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases (nachgereinigter Stickstoff, Gasfluß 40-60 ml/min) und sterischer Konfiguration, lassen sich folgende Androgene gut voneinander trennen:

5 α -3 α -Androstandiol von 5 β -3 α -Androstandiol und 5 α -3 β -Androstandiol, ebenso Androsteron und Ätiocholanolon, Epitestosteron, Testosteron und Δ^4 -Androstendion. Weniger gut trennbar sind 5 β -Androstandion von 5 α -Androstandion und 5 β -Dihydrotestosteron von 5 α -Dihydrotestosteron. (21;22) Siehe dazu Bild 3.

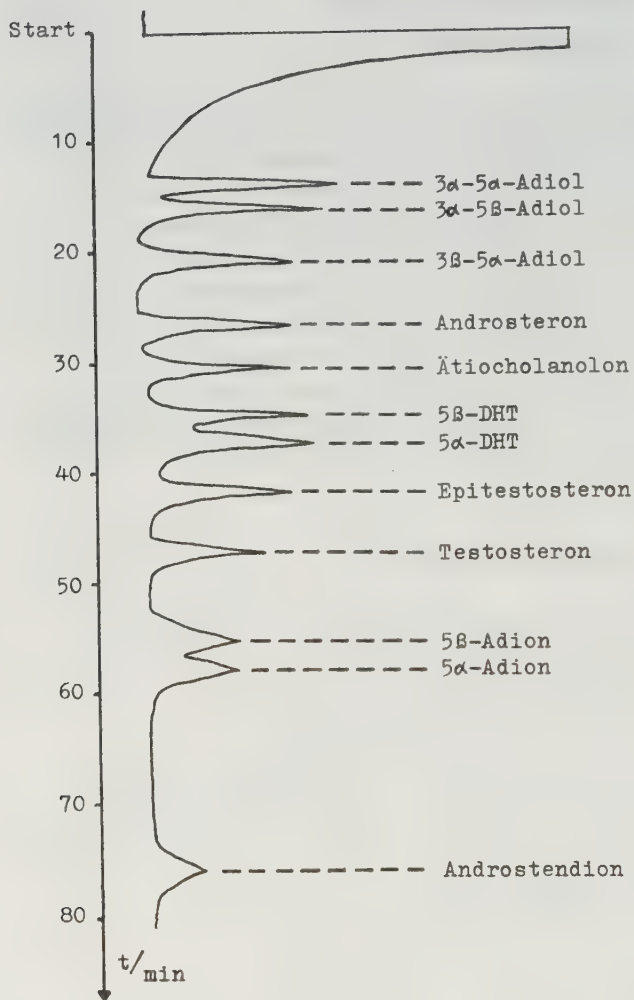


Bild 3: Gaschromatogramm

3.4.3 Beständigkeit und Wiederfindung der radioaktiv markierten Steroide

Um die Beständigkeit der zugesetzten Steroide - (1,2-³H)-Testosteron und (1,2-³H)-Dihydrotestosteron - gegenüber Inkubation, Extraktion, Silylierung und Gaschromatographie zu prüfen, ließen wir jedem Ansatz mit Endometrium- bzw. Endometriumkarzinomgewebe einen Ansatz ohne Gewebe parallel laufen → Leeransatz.

Es fanden sich bei 19 Leeransätzen mit (1,2-³H)-Testosteron noch 72.9 ± 5.5 % der Aktivität in der Testosteronfraktion.

Bei 17 Leeransätzen mit (1,2-³H)-Dihydrotestosteron fanden wir in der 5 α -DHT-Zone 73.9 ± 3.6 % der Gesamtaktivität wieder.

Ähnliche Untersuchungen hat K. Hahn (23) mit (1,2-³H)-Testosteron durchgeführt. Er untersuchte außerdem die Wiederfindung von (1,2-³H)-Testosteron nach Inkubation, Extraktion, Silylierung und Gaschromatographie der Reinsubstanz. Seine Wiederfindungsraten betrugen 82.5 bzw. 86.0 % der Gesamtaktivität.

Eine vollständige Konzentrierung der Radioaktivität der Reinsubstanzen von (1,2-³H)-Testosteron und von (1,2-³H)-Dihydrotestosteron in den entsprechenden Fraktionen scheint nicht möglich zu sein. Eine Erklärung dafür geben die Untersuchungen von Chambaz et al. (20). Diese Autoren haben in ausführlichen Versuchen gezeigt, daß bei der Gaschromatographie von TMS-Derivaten von Testosteron konstante, separate Massenpeaks auftreten, die sich in ihrer Retentionszeit zum Teil erheblich von Testosteron unterscheiden. Diese zusätzlichen Peaks wurden mittels Massenspektrographie als Enoläther bzw. als Di-TMS-Derivate von Testosteron identifiziert. Außerdem dürfte ein geringer Teil des Testosterons (ca.2%) unsilyliert bleiben und

hat damit eine erheblich längere Retentionszeit als Testosteron-TMS.

Bestimmungen der Verluste nach den einzelnen Schritten der Aufarbeitung (21) ergaben folgende Ergebnisse: Nach der Extraktion mit Florisil und der Reinigung an Aluminiumoxyd sind noch 87 - 97 % der Gesamtradioaktivität vorhanden. Die größten Verluste treten bei der Gaschromatographie auf. An den Watteröhrchen des Gasfraktionskollektors sind noch 53.5 - 74.5 % der Gesamtaktivität vorhanden. Da $\frac{1}{6}$ der Aktivität dem Flammenionisationsdetektor zugeführt wird, ergibt sich eine Gesamtwiederfindung von 64 - 87 %.

Eine unvollständige Kondensierung an die Watteröhrchen, bedingt durch den mechanischen Wechsel der Kondensationsröhrchen, scheint die wahrscheinlichste Erklärung für diese hohen Verluste zu sein.

4. Ergebnisse

4.1 In vitro-Abbau und -Metabolismus von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron (5 α -DHT) im menschlichen Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe

4.1.1 Abbau von Testosteron und 5 α -DHT durch Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe

Wird durch das Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe Testosteron bzw. 5 α -DHT abgebaut und in welchem Umfang? Um diese Frage zu beantworten, haben wir den prozentualen Anteil der Testosteron- bzw. 5 α -DHT-Fraktion an der Gesamtradioaktivität gemessen.

Nach der gaschromatographischen Auftrennung fanden sich in der Testosteron- bzw. 5 α -DHT-Fraktion noch folgende Aktivitätsmengen bezogen auf die Gesamtaktivität:

Im Endometriumkarzinomgewebe (n = 12) fanden wir in der Testosteronfraktion 6.13 - 87.28 % der Aktivität wieder. Dies bedeutet, daß zwischen 12.72 und 94.87 % des zugesetzten Testosterons abgebaut wurden. (Tabelle 1)

Im Endometriumgewebe (n = 7) waren in der Testosteronfraktion noch 11.69 - 48.36 % der Gesamtaktivität vorhanden. In diesem Gewebe also ein Testosteronabbau von 51.64 - 88.31 %. (Tabelle 2)

Unter denselben Versuchsbedingungen wurde der Umsatz von 5 α -DHT bestimmt:

Beim Endometriumkarzinomgewebe (n = 10) verblieben in der 5 α -DHT-Fraktion 22.60 - 50.21 % der Gesamtradioaktivität. Dies entspricht einem 5 α -DHT-Umsatz von 49.79 - 77.40 %. (Tabelle 3)

Beim normalen Endometriumgewebe (n = 7) fanden wir in

der 5 α -DHT-Fraktion noch 12.77 - 58.44 % der Aktivität.
In diesem Gewebe also ein 5 α -DHT-Abbau zwischen
87.23 und 41.56 %. (Tabelle 4)

Versuch	Patient	Alter	T-Abbau	Histologie
5	G.P.	60	45.71 %	polypöses Karzinom
7	M.W.	63	72.74 %	hellzelliges, polypöses Karzinom
8	R.K.	78	12.72 %	differenz. Adenoca.
9	M.S.	73	42.40 %	partial differenz. Adenoca.
13	M.M.	56	46.10 %	adenopapilläres Ca.
18	H.S.	71	57.78 %	drüsig papilläres Adenoca.
20	L.K.	59	54.41 %	papilläres Adenoca.
21	I.R.	69	42.21 %	hochdifferenziertes Adenoca.
22	O.H.	74	29.29 %	Adenoca. mit plattenepithelialer Diff.
23	H.H.	80	83.52 %	hochdiff. Klarzellca.
24	M.W.	66	50.01 %	hochdiff. Adenoca.
28	U.L.	56	94.87 %	adenopapilläres Ca.

Tabelle 1: Prozentualer Testosteronabbau bezogen auf die Gesamtradioaktivität beim Endometriumkarzinom (n = 12)

Versuch	Patient	Alter	T-Abbau	Histologie
30	W.R.	49	52.26 %	sezernierendes Epithel
31	F.K.	39	75.87 %	sezernierendes Epithel
32	G.R.	42	67.36 %	sezernierendes Epithel
33	I.S.	56	51.64 %	zylindrisches Epithel
34	R.L.	41	65.40 %	proliferierendes Epithel
37	I.M.	45	88.31 %	sekretorische Aktivität
38	E.K.	41	86.31 %	sekretorische Aktivität

Tabelle 2: Prozentualer Testosteronabbau bezogen auf die Gesamtaktivität beim normalen Endometriumgewebe (n = 7)

Versuch	Patient	Alter	DHT-Abbau	Histologie
1	M.W.	67	77.40 %	papilläres Adenoca.
7	M.W.	63	69.94 %	hellzelliges, polypöses Karzinom
8	R.K.	78	54.82 %	differenziertes Adenoca.
13	M.M.	56	67.17 %	adenopapilläres Karzinom
18	H.S.	71	76.73 %	drüsig papilläres Adenoca.
20	L.K.	59	73.59 %	papilläres Adenoca.
21	I.R.	69	49.79 %	hochdifferenziertes Adenoca.
24	M.W.	66	66.32 %	hochdifferenziertes Adenoca.
25	A.L.	87	52.95 %	gut differenziertes Adenoca.
28	U.L.	56	62.86 %	adenopapilläres Karzinom

Tabelle 3: Prozentualer 5 α -DHT-Abbau bezogen auf die Gesamtradioaktivität beim Endometriumkarzinom (n = 10)

Versuch	Patient	Alter	DHT-Abbau	Histologie
30	W.R.	49	87.23 %	sezernierendes Epithel
31	F.K.	39	86.72 %	sezernierendes Epithel
32	C.R.	42	77.03 %	sezernierendes Epithel
33	I.S.	56	71.75 %	zylindrisches Epithel
34	R.L.	41	41.56 %	proliferier. Epithel
37	I.M.	45	79.27 %	sekretorische Aktivität
38	E.K.	41	84.87 %	sekretorische Aktivität

Tabelle 4: Prozentualer 5 α -DHT-Abbau bezogen auf die Gesamtradioaktivität beim normalen Endometriumgewebe (n = 7)

4.1.2 Metabolismus von Testosteron durch Endometriumkarzinomgewebe

Durch die von uns angewandte Methode der gaschromatographischen Auftrennung der Androgene ist es möglich, 12 Androgenmetaboliten zu identifizieren.

Bei unseren Untersuchungen über den Testosteronstoffwechsel durch Endometriumkarzinomgewebe ($n=12$) fanden wir in folgenden Fraktionen Radioaktivitätsmengen, die zwischen 75 und 92 % über dem Normalbereich ($\bar{x}+2s$) der Leerwertversuche lagen:

Die Fraktion von Δ^4 -Androstendion hatte mit im Mittel 22.31 ± 16.85 % den größten Anteil. In der Fraktion von 5α -Dihydrotestosteron ergab sich im Mittel ein Aktivitätsanteil von 5.04 ± 8.01 %. Etwa gleiche Aktivitätsmengen fanden wir in der Fraktion von Androsteron 2.77 ± 2.68 % im Mittel und in der Fraktion von 3α - 5α -Androstandiol 2.95 ± 4.27 % im Mittel. (Tabelle 5)

Der Testosteronabbau betrug bei dieser Versuchsreihe im Mittel 52.65 ± 22.60 %. Davon entfielen auf die obengenannten Metaboliten im Mittel folgende Anteile: Δ^4 -Androstendion 44.4 ± 29.3 %, 5α -Dihydrotestosteron 9.4 ± 13.8 %, Androsteron 4.9 ± 3.2 % und 3α - 5α -Androstandiol 5.6 ± 7.1 %.

Diese Verteilung zeigt Bild 4.

Auf die übrigen 8 Fraktionen verteilte sich die Radioaktivitätsmenge folgendermaßen:

In der Fraktion von 3α - 5β -Androstandiol 0.22 ± 0.17 %, in der von 5α - 3β -Androstandiol 0.87 ± 1.45 %.

0.40 ± 0.30 % der Aktivitätsmenge fanden wir in der Fraktion von Ätiocholanolon wieder.

1.37 ± 1.83 % in der Fraktion von 5β -Dihydrotestosteron und 0.74 ± 0.58 % in der Fraktion von Epitestosteron.

Die beiden Ketosteroide 5α - bzw. 5β -Androstandion

hatten einen Anteil von 2.79 ± 2.59 % bzw.
 0.68 ± 0.41 % an der Gesamtaktivität. (Mittelwerte $\pm$
einfache Standardabweichung)

Eine Zusammenfassung der Anteile der einzelnen
Fraktionen an der Gesamtaktivität gibt Tabelle 6.
Die Einzelwerte der Fraktionen von 5α -Androstandion
lagen zu 66.6 % über dem Normalbereich der Leerwert-
versuche, die der Fraktionen 5β -DHT, 3α - 5β -Adiol und
 5α - 3β -Adiol zu 58.3 %. Die übrigen Fraktionen lagen
nur 16 % und weniger über dem Normalbereich der
Leerwertversuche.

Versuch	3 α -5 α - Adiol	Andro- steron	5 α -DHT	Andro- stendion
5	0.552	1.664	1.030	37.012
7	0.474	1.614	2.126	34.628
8	0.180	0.270	0.218	5.044
9	0.514	1.260	1.006	34.682
13	0.652	1.712	1.798	39.516
18	3.312	4.952	0.570	15.224
20	1.426	4.060	3.682	14.654
21	6.962	1.594	19.928	1.644
22	5.868	2.948	4.338	6.912
23	0.316	1.706	1.544	49.282
24	0.736	1.220	1.478	28.536
28	14.422	10.246	23.912	0.638

Tabelle 5: Umsatz von Testosteron zu 3 α -5 α -Adiol, Androsteron, 5 α -DHT und Androstendion in Prozent (%) der Gesamtaktivität im Endometriumkarzinomgewebe

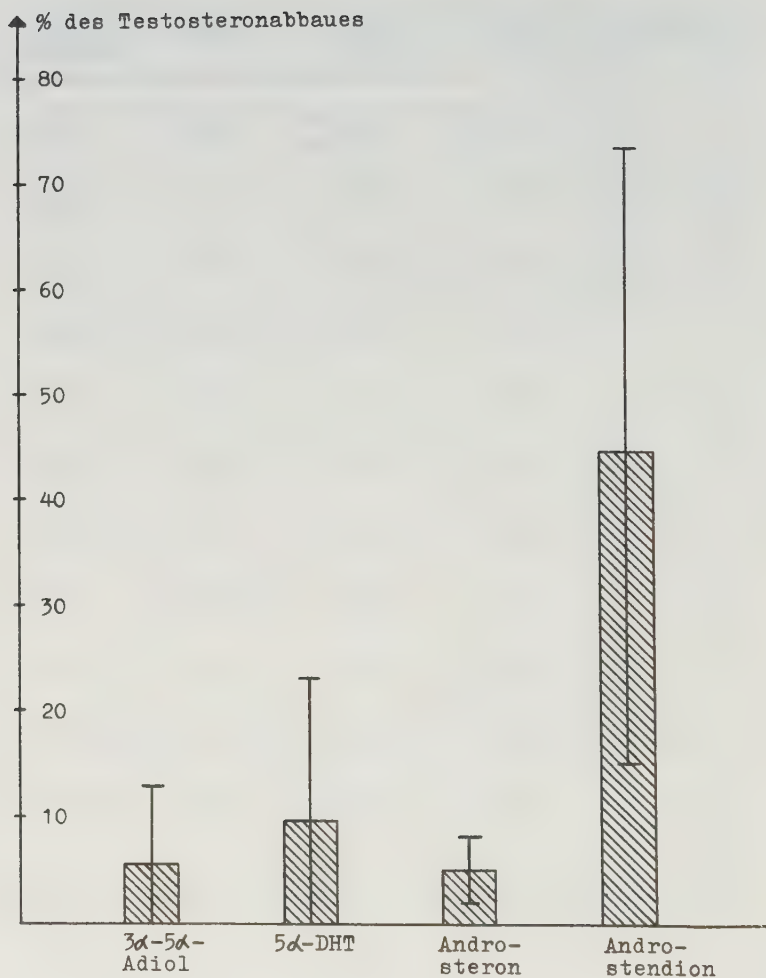


Bild 4: Mittlerer Aktivitätsanteil der Metaboliten 3α-5α-Adiol, 5α-DHT, Androsteron und Δ^4 -Androstendion am Gesamttestosteronabbau im Endometriumkarzinomgewebe

Fraktion	^3H -Aktivität
3 α -5 α -Androstandiol	2.915 $\pm$ 4.270 %
3 α -5 β -Androstandiol	0.220 $\pm$ 0.175 %
5 α -5 β -Androstandiol	0.874 $\pm$ 1.453 %
Androsteron	2.770 $\pm$ 2.680 %
Ätiocholanolon	0.401 $\pm$ 0.300 %
5 β -DHT	1.375 $\pm$ 1.830 %
5 α -DHT	5.047 $\pm$ 8.010 %
Epitestosteron	0.740 $\pm$ 0.580 %
Testosteron	47.412 $\pm$ 22.400 %
5 β -Androstandion	0.687 $\pm$ 0.412 %
5 α -Androstandion	2.798 $\pm$ 2.590 %
Δ^4 -Androstendion	22.314 $\pm$ 16.850 %

Tabelle 6: Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung (n=12) der beim Testosteronabbau im Endometriumkarzinomgewebe entstandenen Metaboliten

4.1.3 Metabolismus von Testosteron durch Endometriumgewebe

Beim Stoffwechsel von Testosteron durch Endometriumgewebe ergaben sich folgende Verteilungen der Radioaktivität für die verschiedenen Fraktionen:

In der Fraktion von Δ^4 -Androstendion 43.56 ± 12.64 %, in der Fraktion von Androsteron 1.56 ± 1.67 %, in der Fraktion von 5α -DHT 2.13 ± 1.46 % und in der Fraktion von 3α - 5α -Androstandiol 0.56 ± 0.78 % (jeweils Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung).

Die Einzelmeßwerte dieser Fraktionen lagen zu mehr als 50 % über dem Normalbereich der Leerwerte.

Tabelle 7 zeigt die Einzelmeßwerte.

Bei den Versuchen mit Endometriumgewebe ergab sich ein höherer Testosteronabbau als beim Karzinomgewebe, er betrug im Mittel 69.58 ± 14.78 %.

Das abgebaute Testosteron verteilte sich auf die obengenannten Metaboliten wie folgt:

Δ^4 -Androstendion 62.2 ± 9.8 %, Androsteron 3.4 ± 3.3 %, 5α -DHT 3.2 ± 2.3 % und 3α - 5α -Androstandiol 0.8 ± 1.1 % (jeweils Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung).

Darstellung in Bild 5

In den übrigen identifizierten Fraktionen, bei denen weniger als 50 % der Einzelmeßwerte über dem Normalbereich der Leerwerte lagen, fanden wir folgende

Verteilung der Radioaktivität:

0.153 ± 0.057 % in der Fraktion von 3α - 5β -Androstandiol, 0.399 ± 0.301 % in der Fraktion von 5α - 3β -Androstandiol und in der Fraktion von Ätiocholanolon 0.426 ± 0.186 %.

In der Fraktion von 5β -DHT waren 0.928 ± 0.578 %, in der Fraktion des Epitestosterons 0.785 ± 0.299 %, in der Fraktion von 5β -Androstandion 0.716 ± 0.321 % und in der Fraktion von 5α -Androstandion 2.927 ± 1.643 % der Gesamtaktivität zu finden.

Tabelle 8 zeigt die Aktivität der einzelnen Metaboliten.

Versuch	3 α -5 α - Adiol	Andro- steron	5 α -DHT	Andro- stendion
30	0.234	0.864	1.034	36.534
31	0.102	0.866	1.020	55.374
32	2.306	5.236	3.848	30.090
33	0.386	0.464	2.230	31.984
34	0.512	1.060	4.444	35.804
37	0.198	0.746	0.876	56.332
38	0.192	1.836	1.422	58.730

Tabelle 7: Umsatz von Testosteron zu 3 α -5 α -Adiol, Androsteron, 5 α -DHT und Androstendion in Prozent (%) der Gesamtaktivität im Endometriumgewebe

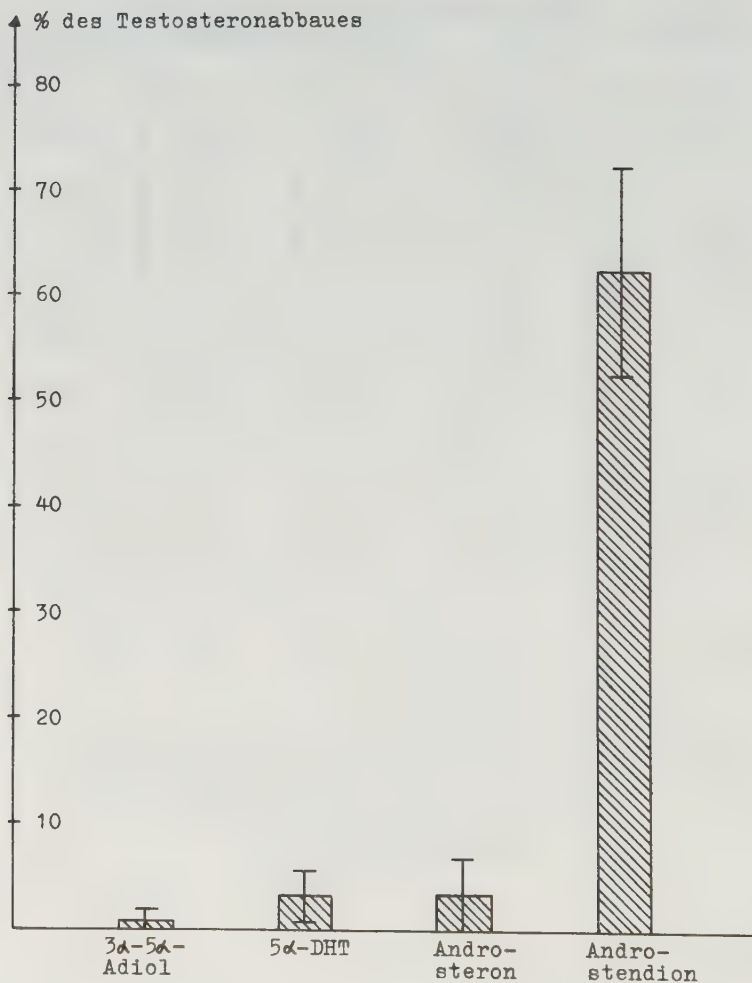


Bild 5: Mittlerer Aktivitätsanteil der Metaboliten 3α-5α-Adiol, 5α-DHT, Androsteron und Δ^4 -Androstendion am Gesamttestosteronabbau im Endometriumgewebe

Fraktion	^3H -Aktivität
3 α -5 α -Androstandiol	0.561 $\pm$ 0.781 %
3 α -5 β -Androstandiol	0.153 $\pm$ 0.057 %
5 α -3 β -Androstandiol	0.399 $\pm$ 0.301 %
Androsteron	1.565 $\pm$ 1.676 %
Ätiocholanolon	0.426 $\pm$ 0.186 %
5 β -DHT	0.928 $\pm$ 0.578 %
5 α -DHT	2.125 $\pm$ 1.462 %
Epitestosteron	0.785 $\pm$ 0.299 %
Testosteron	30.419 $\pm$ 14.784 %
5 β -Androstandion	0.716 $\pm$ 0.321 %
5 α -Androstandion	2.927 $\pm$ 1.643 %
Δ^4 -Androstendion	43.558 $\pm$ 12.645 %

Tabelle 8: Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung (n=7) der beim Testosteronabbau im Endometriumgewebe entstandenen Metaboliten

4.1.4 Metabolismus von 5 α -Dihydrotestosteron durch Endometriumkarzinomgewebe

Bei der gaschromatographischen Auswertung des Stoffwechsels von 5 α -DHT fanden wir folgende Verteilung der Radioaktivität (jeweils Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung): Annähernd gleiche Werte ergaben sich in der Fraktion von Androsteron mit 15.21 ± 6.53 % und in der Fraktion von 3 α -5 α -Androstandiol mit 13.10 ± 6.55 %. In der Fraktion von 5 α -3 β -Androstandiol waren 3.87 ± 2.01 % und in der Fraktion von 5 α -Androstandion 8.75 ± 5.52 % der Gesamtradioaktivität zu finden.

Die Einzelmeßwerte dieser vier Fraktionen lagen jeweils zu 100 % über dem Normalbereich der Leerwertversuche. Tabelle 9 zeigt die Einzelmeßwerte der Radioaktivität in den oben genannten Fraktionen.

Bei den Versuchen mit Karzinomgewebe wurden im Mittel 65.16 ± 9.89 % des zugesetzten 5 α -DHT abgebaut. Die abgebaute Menge verteilte sich folgendermaßen auf die obigen Fraktionen:

Androsteron 22.4 ± 8.8 %, 3 α -5 α -Androstandiol 20.9 ± 12.8 %, 5 α -Androstandion 13.5 ± 8.3 % und 5 α -3 β -Androstandiol 5.8 ± 2.5 %.

In Bild 6 ist diese Verteilung dargestellt.

In allen übrigen Fraktionen waren nur geringe Aktivitätsmengen zu finden. In der Fraktion von 3 α -5 β -Androstandiol 0.66 ± 0.25 % und in der von Ätiocholanolon 0.89 ± 0.26 %.

In der 5 β -DHT-Fraktion fanden wir 3.35 ± 1.44 % der Aktivität. Die Testosteronfraktion hatte einen Anteil von 2.90 ± 2.18 % und die Epitestosteronfraktion

einen Anteil von 1.16 ± 0.55 % an der Gesamtradioaktivität.

In der Fraktion von Δ^4 -Androstendion waren 0.78 ± 0.49 % der Aktivität und in der Fraktion von 5β -Androstandion 0.75 ± 0.49 %.

Eine Zusammenfassung der Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung der Aktivitätsverteilung auf die einzelnen Fraktionen zeigt Tabelle 10.

Versuch	3 α -5 α - Adiol	5 α -3 β - Adiol	Andro- steron	5 α -Andro- standion
1	17.568	7.552	17.850	3.696
7	9.824	3.110	14.368	12.346
8	12.146	4.148	4.880	5.354
13	9.090	4.148	22.266	10.180
18	20.914	7.008	14.894	1.614
20	7.838	1.886	22.678	10.174
21	26.344	2.906	5.092	2.408
24	5.168	1.244	22.690	17.618
25	12.214	3.086	14.420	8.344
28	9.888	3.606	12.962	15.860

Tabelle 9: Umsatz von 5 α -DHT zu 3 α -5 α -Adiol, 5 α -3 β -Adiol, Androsteron und 5 α -Androstandion in Prozent (%) der Gesamtaktivität im Endometriumkarzinomgewebe

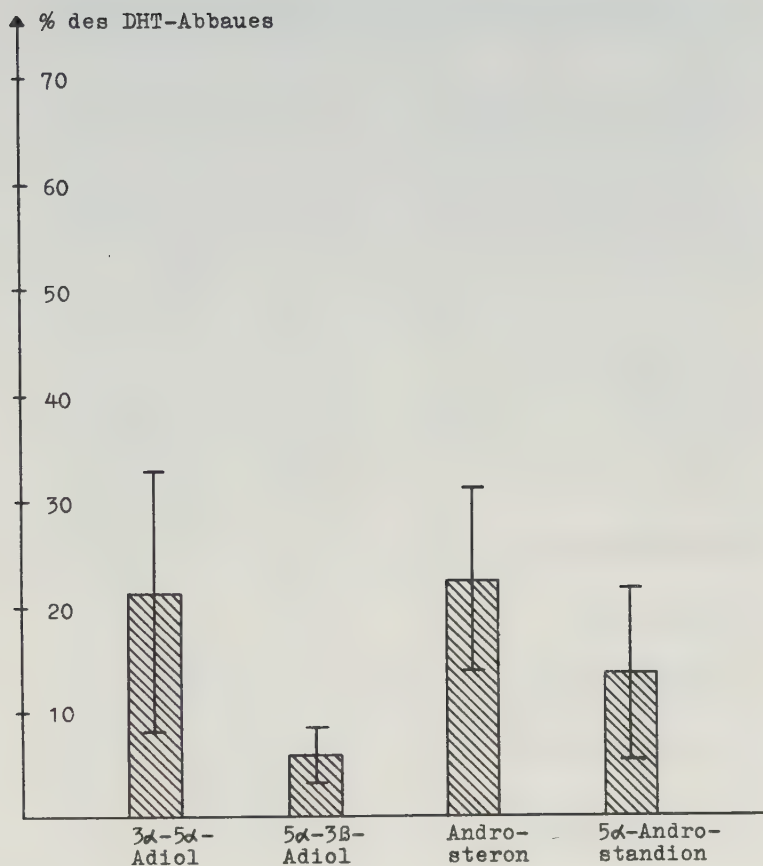


Bild 6: Mittlerer Aktivitätsanteil der Metaboliten 3α-5α-Adiol, 5α-3β-Adiol, Androsteron und 5α-Androstandion am Gesamt-DHT-Abbau im Endometriumkarzinomgewebe

Fraktion	^3H -Aktivität
3 α -5 α -Androstandiol	13.100 $\pm$ 6.548 %
3 α -5 β -Androstandiol	0.663 $\pm$ 0.251 %
5 α -3 β -Androstandiol	3.869 $\pm$ 2.016 %
Androsteron	15.210 $\pm$ 6.532 %
Ätiocholanolon	0.894 $\pm$ 0.257 %
5 β -DHT	3.354 $\pm$ 1.443 %
5 α -DHT	34.329 $\pm$ 9.890 %
Epitestosteron	1.158 $\pm$ 0.549 %
Testosteron	2.905 $\pm$ 2.177 %
5 β -Androstandion	0.755 $\pm$ 0.479 %
5 α -Androstandion	8.754 $\pm$ 5.516 %
Δ^4 -Androstendion	0.784 $\pm$ 0.493 %

Tabelle 10: Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung (n=10) der beim 5 α -DHT-Abbau im Endometriumkarzinomgewebe entstandenen Metaboliten

4.1.5 Metabolismus von 5 α -Dihydrotestosteron durch Endometriumgewebe

Die gaschromatographische Auftrennung der Steroide nach der Inkubation von normalem Endometriumgewebe mit (1,2-³H)-Dihydrotestosteron erbrachte folgende Ergebnisse: Von der zugesetzten Aktivität fanden wir in der Fraktion von 3 α -5 α -Androstandiol 3.78 ± 2.86 %, in der Fraktion von 5 α -3 β -Androstandiol 1.75 ± 1.02 % wieder. In der Androsteronfraktion waren 12.58 ± 5.85 % der Aktivität und in der Fraktion von 5 α -Androstandion 29.23 ± 10.51 % der Gesamtaktivität vorhanden (Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung). Die Einzelmeßwerte dieser Fraktionen lagen zu jeweils 100 % über dem Normalbereich der parallel laufenden Leerwertversuche.

Tabelle 11 zeigt die Einzelmeßwerte der Radioaktivität in den oben genannten Fraktionen.

Bei den Inkubationsversuchen mit histologisch normalem Endometriumgewebe wurden 75.49 ± 15.99 % des zugesetzten (1,2-³H)-Dihydrotestosterons metabolisiert. Dieser DHT-Abbau verteilte sich auf die oben genannten Metaboliten wie folgt:

3 α -5 α -Androstandiol 5.1 ± 3.4 %, 5 α -3 β -Androstandiol 2.3 ± 1.2 %, Androsteron 16.1 ± 5.1 % und 5 α -Androstandion 40.4 ± 15.6 %.

Die Darstellung dieser Verteilung erfolgt in Bild 7

In den übrigen identifizierten Fraktionen fanden wir folgende Aktivitätsverteilung:

0.28 ± 0.18 % in der Fraktion von 3 α -5 β -Androstandiol, in der Fraktion von Ätiocholanolon 0.80 ± 0.25 %.

In der Zone von 5 β -Dihydrotestosteron fanden wir 7.95 ± 3.77 % der Gesamtaktivität.

Die Testosteronfraktion hatte einen Aktivitätsanteil von 1.44 ± 1.66 % und die Epitestosteronfraktion einen Anteil von 0.88 ± 0.62 %. In der 5β -Androstandionfraktion waren 2.90 ± 0.99 % der Aktivität und in der Δ^4 -Androstendionfraktion 0.71 ± 0.44 % der Gesamtaktivität zu finden.

Eine Zusammenstellung der Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung der Aktivitätsverteilung auf die einzelnen Fraktionen zeigt Tabelle 12.

Versuch	3 α -5 α - Adiol	5 α -3 β - Adiol	Andro- steron	5 α -Andro- standion
30	7.938	3.178	20.374	11.902
31	2.422	1.402	17.428	37.934
32	7.906	3.242	10.340	24.876
33	2.418	1.202	6.674	41.986
34	2.670	1.154	5.382	23.192
37	1.578	0.790	10.338	37.328
38	1.526	1.278	17.514	27.360

Tabelle 11: Umsatz von 5 α -DHT zu 3 α -5 α -Adiol, 5 α -3 β -Adiol, Androsteron und 5 α -Androstandion in Prozent (%) der Gesamttaktivität im normalen Endometriumgewebe

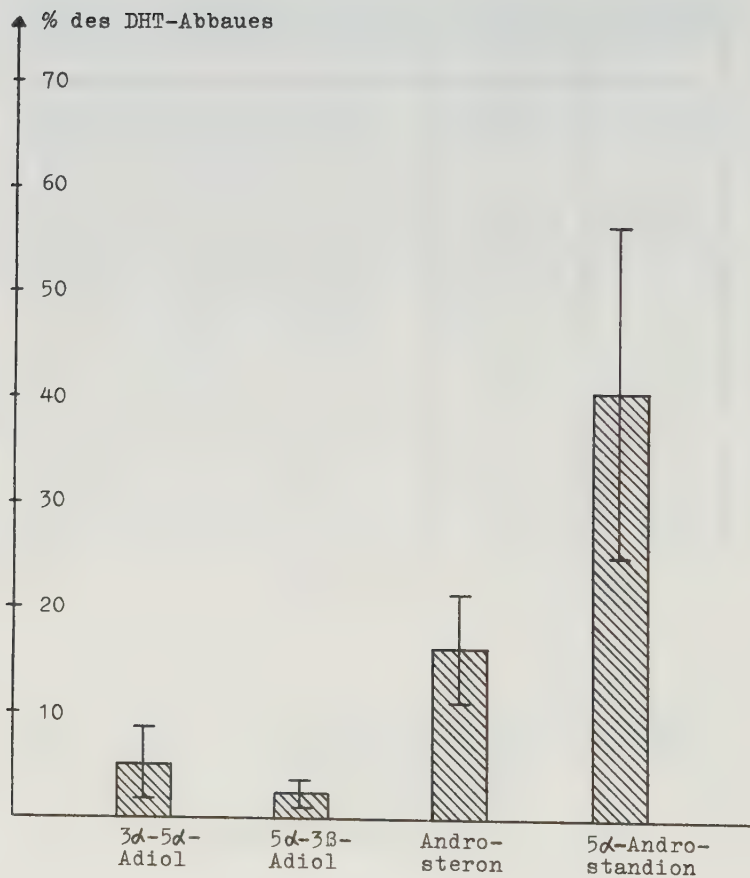


Bild 7: Mittlerer Aktivitätsanteil der Metaboliten 3α-5α-Adiol, 5α-3β-Adiol, Androsteron und 5α-Androstandion am Gesamt-DHT-Abbau im Endometriumgewebe

Fraktion	^3H -Aktivität
3 α -5 α -Androstandiol	3.779 $\pm$ 2.863 %
3 α -5 β -Androstandiol	0.279 $\pm$ 0.184 %
5 α -3 β -Androstandiol	1.749 $\pm$ 1.015 %
Androsteron	12.578 $\pm$ 5.850 %
Ätiocholanolon	0.804 $\pm$ 0.250 %
5 β -DHT	7.954 $\pm$ 3.774 %
5 α -DHT	24.511 $\pm$ 15.990 %
Epitestosteron	0.879 $\pm$ 0.617 %
Testosteron	1.437 $\pm$ 1.661 %
5 β -Androstandion	2.904 $\pm$ 0.985 %
5 α -Androstandion	29.225 $\pm$ 10.513 %
Δ^4 -Androstendion	0.705 $\pm$ 0.435 %

Tabelle 12: Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung (n=7) der beim 5 α -DHT-Abbau im Endometriumgewebe entstandenen Metaboliten

4.2 17-Keto- und 17 β -Hydroxysteroidे beim Testosteron- und 5 α -DHT-Stoffwechsel

4.2.1 Testosteronstoffwechsel

Bei unseren Inkubationsversuchen von Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe mit (1,2-³H)-Testosteron entstehen folgende 17 β -Hydroxysteroidе: 3 α -5 α -Androstandiol, 3 α -5 β -Androstandiol, 5 α -3 β -Androstandiol, 5 β -DHT, 5 α -DHT und Epitestosteron.

Der Aktivitätsanteil dieser Stoffwechselprodukte an der zugesetzten Gesamtradioaktivität beträgt für das Endometriumgewebe (n=7) 4.95 ± 2.77 % und für das Karzinomgewebe (n=12) 11.18 ± 15.49 %.

Die Verteilung der 17-Ketometaboliten (Androsteron, Ätiocholanolon, Androstendion, 5 α - und 5 β -Androstandion) ergibt für Endometriumgewebe 49.18 ± 12.00 % und für Karzinomgewebe 28.91 ± 16.53 % (jeweils Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung)

In Bild 8 sind diese Ergebnisse dargestellt.

4.2.2 5 α -DHT-Stoffwechsel

Bei den Inkubationsversuchen von Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe mit (1,2-³H)-DHT entstehen folgende 17-Hydroxymetaboliten: 3 α -5 α -Androstandiol, 3 α -5 β -Androstandiol, 5 α -3 β -Androstandiol, 5 β -DHT, 5 α -DHT und Epitestosteron.

Für Endometriumgewebe (n=7) beträgt der Anteil der 17-Hydroxysteroidе an der Gesamtaktivität 14.94 ± 7.69 %, für Karzinomgewebe (n=10) 25.02 ± 8.93 %.

Der Anteil der 17-Ketosteroidе (Androsteron, Ätiocholanolon, Androstendion, 5 α - und 5 β -Androstandion) an der Gesamtradioaktivität beträgt für Endometriumgewebe (n=7) 46.21 ± 10.59 % und für Karzinomgewebe (n=10) 26.39 ± 10.77 %. Siehe dazu Bild 9

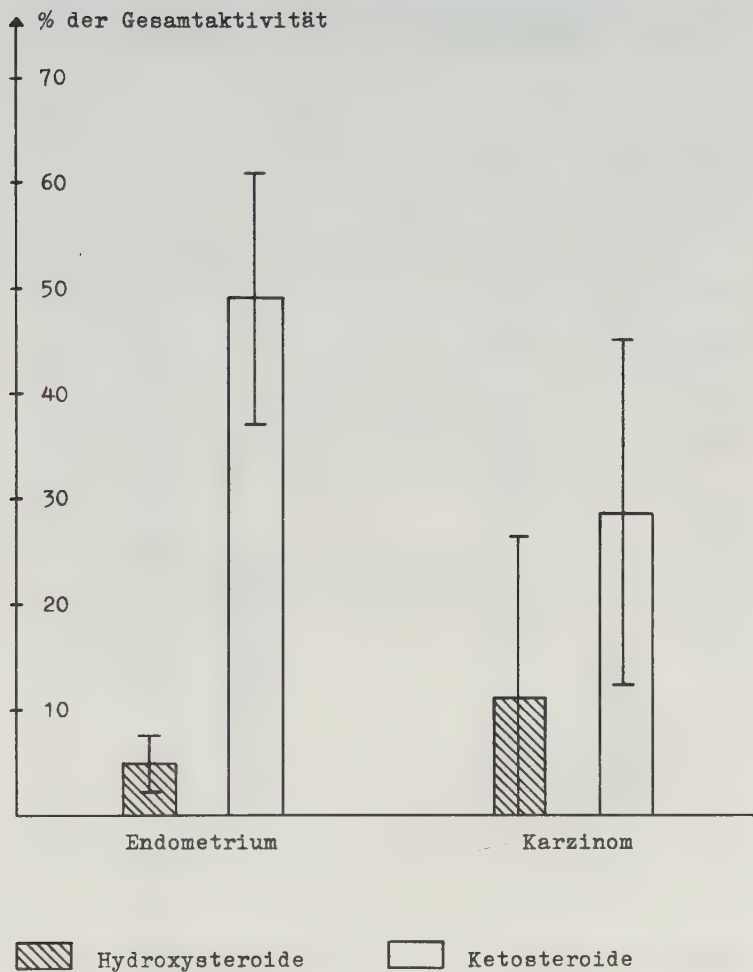


Bild 8: Mittlerer Aktivitätsanteil der Hydroxy- und Ketosteroids an der Gesamtaktivität beim Testosteronstoffwechsel im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe

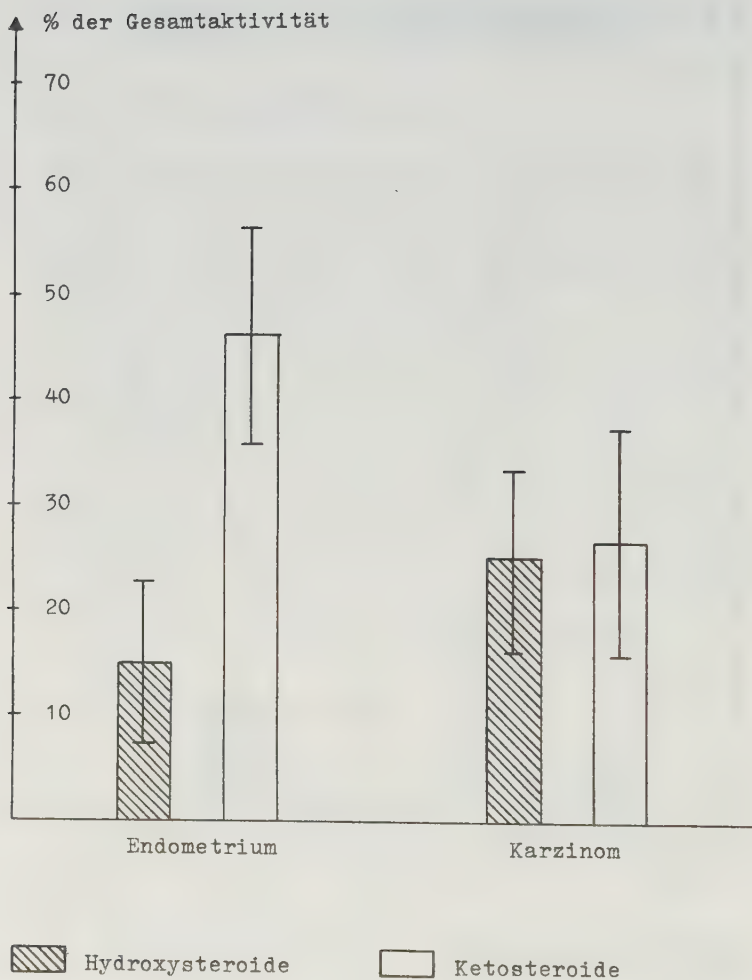


Bild 9: Mittlerer Aktivitätsanteil der Hydroxy- und Ketosteroiden an der Gesamtaktivität beim 5 α -DHT-Stoffwechsel im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe

4.3 5 α - und 5 β -hydrierte Metaboliten beim Testosteron- und 5 α -DHT-Stoffwechsel

Bei unseren Untersuchungen über den Stoffwechsel von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe ergaben sich folgende Verteilungen der 5 α -bzw. 5 β -hydrierten Verbindungen: Beim Stoffwechsel von (1,2-³H)-Testosteron durch Endometriumgewebe beträgt der Aktivitätsanteil der 5 α -hydrierten Metaboliten (3 α -5 α -Androstandiol, 3 α -5 β -Androstandiol, 5 α -3 β -Androstandiol, Androsteron, 5 α -DHT und 5 α -Androstandion) 7.73 ± 5.30 % an der zugesetzten Gesamtradioaktivität.

Der Anteil der 5 β -hydrierten Metaboliten (Ätiocholanolon, 5 β -DHT und 5 β -Androstandion) beträgt 2.07 ± 0.86 %.

Bei den Inkubationsversuchen mit Karzinomgewebe fanden wir 14.75 ± 16.76 % der zugesetzten Aktivität bei den 5 α -hydrierten Steroiden und 2.29 ± 2.23 % bei den 5 β -hydrierten Steroiden. Eine Zusammenfassung dieser Ergebnisse gibt Bild 10

Bei der Inkubation mit (1,2-³H)-Dihydrotestosteron haben wir bei den Versuchen mit Endometriumgewebe 47.61 ± 8.29 % der zugesetzten Radioaktivität bei den 5 α -hydrierten Steroiden (3 α -5 α -Androstandiol, 3 α -5 β -Androstandiol, 5 α -3 β -Androstandiol, Androsteron, 5 α -DHT und 5 α -Androstandion) und 10.52 ± 5.45 % bei den 5 β -hydrierten Steroiden wiedergefunden.

Die Inkubationsversuche mit Karzinomgewebe ergaben folgende Verteilung der Aktivität: 5 α -hydrierte Steroide 41.59 ± 6.17 % und 5 β -hydrierte Steroide 5.00 ± 1.57 % (jeweils Mittelwerte $\pm$ einfache Standardabweichung)

In Bild 11 sind diese Ergebnisse zusammengestellt.

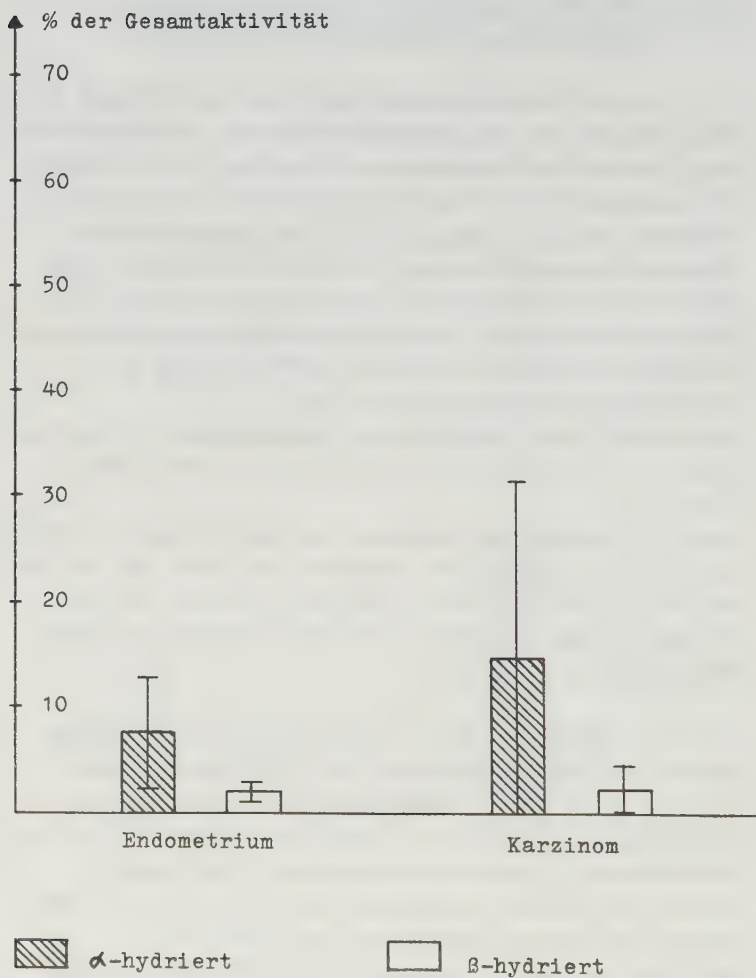


Bild 10: Mittlerer Aktivitätsanteil der α - und β -hydrierten Metaboliten an der Gesamtaktivität beim Testosteronstoffwechsel im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe

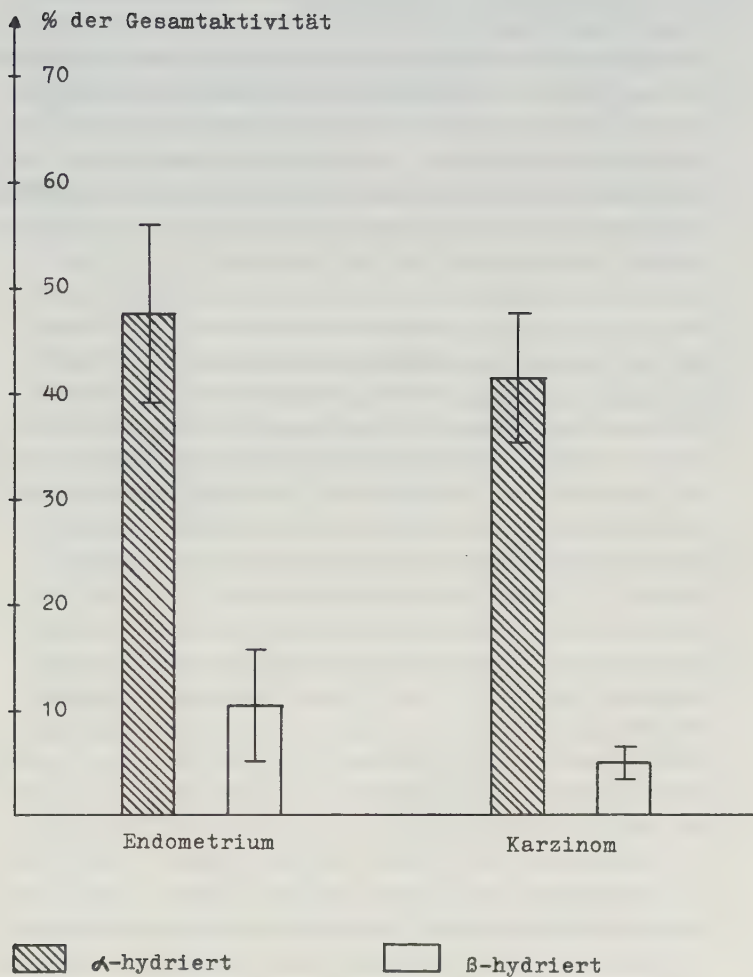


Bild 11: Mittlerer Aktivitätsanteil der α - und β -hydrierten Metaboliten an der Gesamtaktivität beim 5α -DHT-Stoffwechsel im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe

5. Besprechung der Ergebnisse

Bei unseren Versuchen hat sich gezeigt, daß unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen ein in - vitro Stoffwechsel von (1,2-³H)-Testosteron und (1,2-³H)-5 α -Dihydrotestosteron sowohl im Endometrium- als auch im Endometriumkarzinomgewebe stattfindet. Diese Feststellung steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Untersucher (2;11).

Die von uns gefundenen Umsatzraten für Testosteron lagen bei normalem Endometrium zwischen 11.69 und 48.36 % und bei Karzinomgewebe zwischen 12.72 und 94.87 %. Trotz der großen Abweichungen, auf deren mögliche Ursachen wir schon bei der Beurteilung der Methode (Seite 19) hingewiesen haben, ergibt sich für das Normalgewebe ein statistisch auffälliger ($\alpha < 0.05$) höherer Testosteronumsatz.

Sämtliche Prüfstatistiken wurden anhand des Mann-Whitney U-Testes durchgeführt (24).

Der Abbau von 5 α -Dihydrotestosteron im Endometrium lag zwischen 87.23 und 41.56 %, im Karzinomgewebe zwischen 49.79 und 77.40 %. Auch beim 5 α -DHT-Stoffwechsel konnten wir eine eindeutige statistisch auffällige ($\alpha < 0.05$) Differenz zwischen den untersuchten Geweben feststellen: der Umsatz im Endometriumgewebe war höher.

Eine Zusammenfassung der Kenntnisse über Stoffwechselwege und Abbauprodukte des Testosterons gibt W.Staib in seinem Referat über den intrazellulären Testosteronstoffwechsel. Nicht nur die Leber, auch andere Organe besitzen Enzymsysteme, welche das Testosteron in verschiedene Metaboliten verwandeln können (14). Wir können aufgrund der von uns angewandten gas-chromatographischen Methode 12 verschiedene Testo-

steronmetaboliten unterscheiden (siehe dazu Bild 3). Beim Stoffwechsel von Testosteron im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe konnten wir vorwiegend folgende vier Metaboliten finden:

Δ^4 -Androstendion, 5α -Dihydrotestosteron, Androsteron und 3α - 5α -Androstandiol.

Diese Ergebnisse stimmen überein mit den Untersuchungen über den Testosteronstoffwechsel im Rattenuterus von Hoffmann et al. (13)

Vergleicht man nun den Testosteronstoffwechsel zwischen Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe, so läßt sich für den Metaboliten Δ^4 -Androstendion sagen, daß er im normalen Endometrium vermehrt gebildet wird. Die Differenz gegenüber dem Karzinomgewebe ist statistisch auffällig ($\alpha < 0.05$).

Zu diesem Ergebnis kamen auch Calanog et al. bei ihren Untersuchungen über den Plasmatestosteronspiegel beim Endometriumkarzinom (11).

Ebenso besteht eine statistisch auffällige ($\alpha < 0.05$) Differenz für den Metaboliten 3α - 5α -Androstandiol, allerdings zugunsten des Stoffwechsels im Karzinomgewebe.

Für die Metaboliten Androsteron und 5α -Dihydrotestosteron ergibt sich keine statistisch auffällige Differenz zwischen normalem und karzinomatösem Gewebe.

In Bild 12 haben wir den Anteil der Metaboliten Δ^4 -Androstendion, 5α -DHT, Androsteron und 3α - 5α -Androstandiol am Testosteronumsatz im Endometrium- und im Endometriumkarzinomgewebe dargestellt.

Ausgehend von den entstandenen Testosteronmetaboliten kann man annehmen, daß sowohl im Endometrium- als auch im Endometriumkarzinomgewebe folgende Enzymsysteme vorhanden sein müssen:

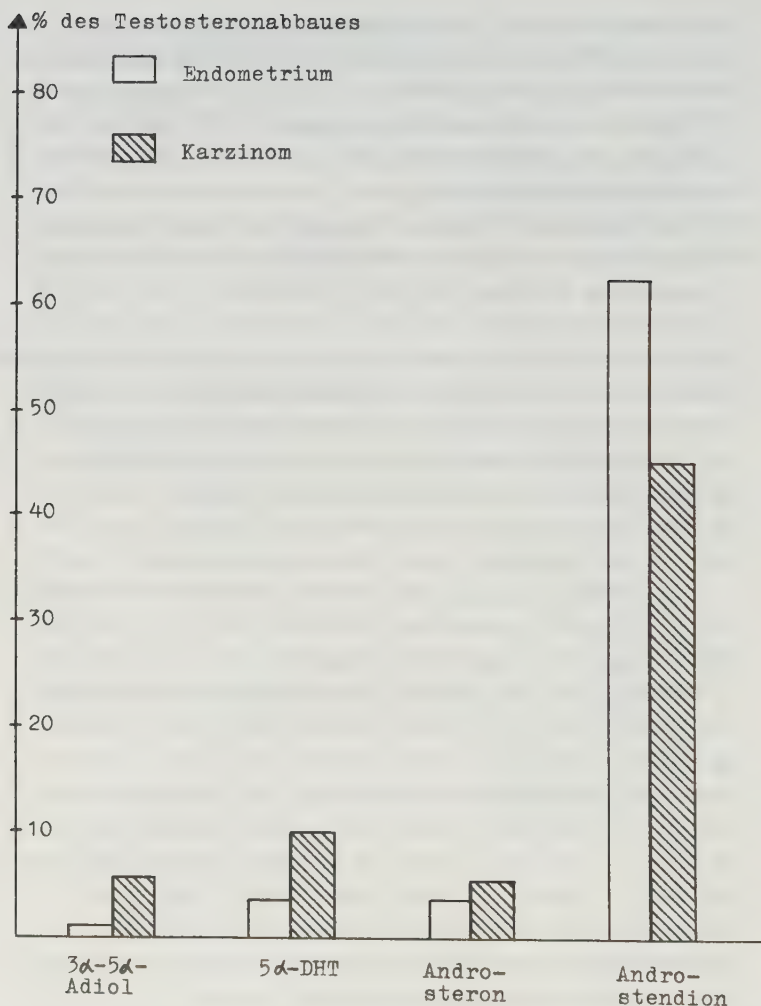


Bild 12: Mittlerer Aktivitätsanteil der Metaboliten 3 α -5 α -Adiol, 5 α -DHT, Androsteron und Δ^4 -Androstendion am Gesamttestosteronabbau im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe

- Die 17 β -Hydroxysteroiddehydrogenase (17 β -HSD), welche die 17-Hydroxygruppe zur 17-Ketogruppe oxydiert. Dieses Enzym wurde schon von anderen Arbeitsgruppen (12;25) im menschlichen Endometrium und Endometriumkarzinom gefunden.
- Die 5 α -Reductase, die die C₄-Doppelbindung im Ring A reduziert und über deren Vorkommen im menschlichen Endometrium und im Rattenuterus L.Rose et al. (26) Untersuchungen durchführten. Sie schlossen aus der Umwandlung von Testosteron zu Dihydrotestosteron auf das Vorhandensein dieses Enzyms.
- Und schließlich noch die 3 α -Hydroxysteroid-Dehydrogenase, welche die Ketogruppe am C₃ zum sekundären Alkohol reduziert.

Bei den Inkubationsversuchen mit 5 α -Dihydrotestosteron, dem biologisch aktiveren Androgen -150 % biologische Aktivität, verglichen mit Testosteron (27)- das bisher vor allem in Erfolgsorganen (z.B. Prostata, Samenblasen, Nebenhoden) nachgewiesen wurde, und deshalb auch als biologische Wirkform des Testosterons bezeichnet wird, verteilte sich die Aktivität hauptsächlich auf folgende Metaboliten: 3 α -5 α -Androstandiol, 5 α -3 β -Androstandiol, Androsteron und 5 α -Androstandion. Der Vergleich des Stoffwechsels zwischen Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe ergibt für 3 α -5 α -Androstandiol einen signifikant ($\alpha < 0.01$) höheren Abbau im Karzinom. Auch das Stoffwechselprodukt 3 α -5 β -Androstandiol ist im Karzinomgewebe signifikant erhöht ($\alpha < 0.025$). Der Metabolit 5 α -Androstandion, der beim Testosteronstoffwechsel nicht beobachtet wurde, ist im normalen Endometriumgewebe signifikant erhöht ($\alpha < 0.01$). Keine signifikante Differenz ergibt sich für das Stoffwechselprodukt Androsteron. In Bild 13 sind diese Ergebnisse dargestellt.

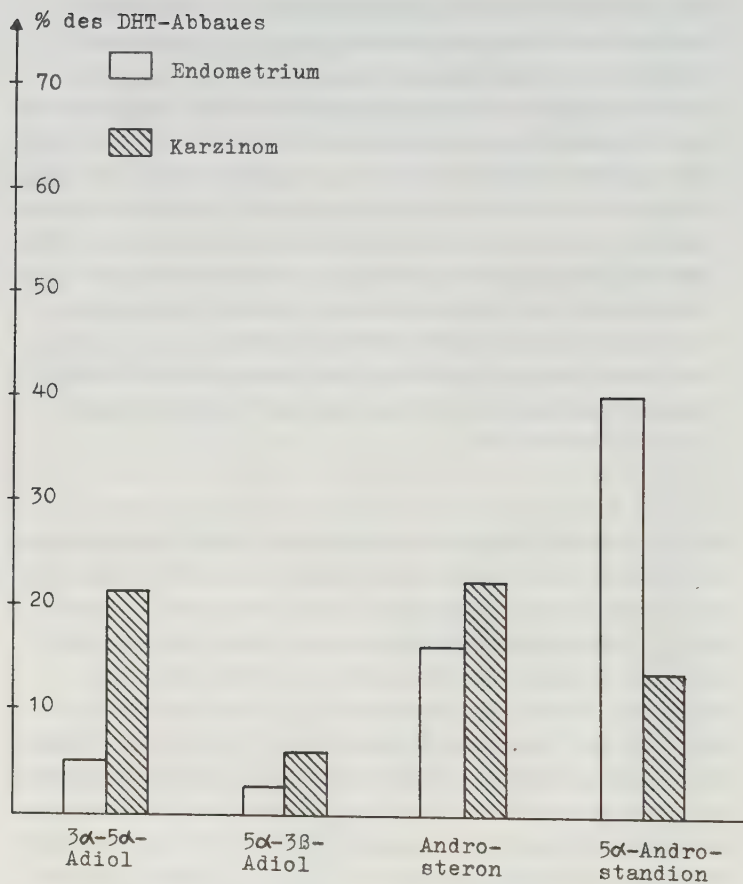


Bild 13: Mittlerer Aktivitätsanteil der Metaboliten 3α-5α-Adiol, 5α-3β-Adiol, Androsteron und, 5α-Androstandion am Gesamt-DHT-Abbau im Endometrium-und Endometriumkarzinomgewebe

Im Gegensatz zum Testosteronstoffwechsel entsteht beim 5 α -Dihydrotestosteronstoffwechsel der Metabolit 5 α -3 β -Androstandiol, der auf das zusätzliche Vorhandensein einer 3 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase schließen läßt.

Auffällig ist auch der hohe Anteil des Metaboliten 5 α -Androstandion (12 - 42 % der Aktivität) im normalen Endometrium, der wahrscheinlich durch die Oxydierung der 17-Hydroxy- zur 17-Ketogruppe mit Hilfe der 17 β -HSD entsteht, oder über die Zwischenmetaboliten 5 α -3 α -Androstandiol und Androsteron bzw. über 5 α -3 β -Androstandiol und Epiandrosteron entstanden ist. Eine Übersicht und Zusammenfassung der beim Testosteron- und 5 α -Dihydrotestosteronstoffwechsel gebildeten Metaboliten gibt Bild 14.

Beim Testosteronstoffwechsel unterscheidet man einen Abbau zu 17-Keto- und 17-Hydroxysteroiden. Untersuchungen von F. de Waard (9) und S. Sall (10) über die 17-Ketosteroidausscheidung im Urin von Frauen mit Endometriumkarzinom im Vergleich mit gesunden Frauen, ergaben für die Karzinomgruppe eine signifikante Abnahme der Ätiocholanolon- bzw. Androsteronausscheidung.

Bei unseren in - vitro Untersuchungen fanden wir beim Testosteronstoffwechsel im Endometriumkarzinomgewebe eine statistisch auffällige ($\alpha < 0.05$) niedrigere Bildung von 17-Ketosteroiden als im Normalgewebe. Beim 5 α -Dihydrotestosteronstoffwechsel ist die erniedrigte Bildung von 17-Ketosteroiden im Karzinomgewebe statistisch signifikant ($\alpha < 0.01$). Die Bildung der 17-Hydroxysteroiden ist beim Testosteron- und 5 α -Dihydrotestosteronstoffwechsel im Karzinomgewebe erhöht. Der Unterschied ist beim 5 α -DHT-Stoffwechsel statistisch auffällig ($\alpha < 0.05$),

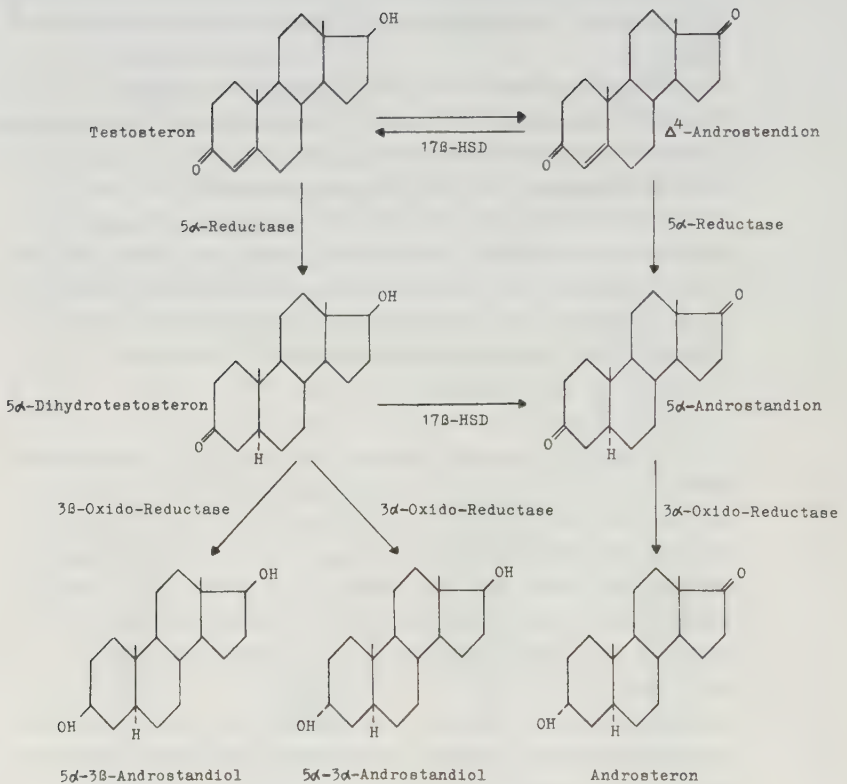


Bild 14: Metaboliten und Enzyme beim Testosteron- und 5α-DHT-Stoffwechsel im Endometrium und Endometriumkarzinom

beim Testosteronstoffwechsel ergibt sich keine signifikante Differenz.

Untersuchungen von Baulieu und Mauvais-Jarvis (15), bei denen radioaktives Testosteron injiziert und die entstehenden Metaboliten im Urin bestimmt wurden, ergaben, daß Testosteron im Organismus zu 5 α - und 5 β -hydrierten Verbindungen umgesetzt wird.

D. Engelhardt (22) fand bei seinen in - vitro Untersuchungen im hepatischen Stoffwechsel von Testosteron überwiegend 5 β -hydrierte Metaboliten. Eine Umwandlung in biologisch aktive 5 α -hydrierte Verbindungen fand er beim extrahepatischen Testosteronstoffwechsel im Hautgewebe aus der Pubesregion.

Bei unseren Untersuchungen mit Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe fanden wir beim Testosteron- und beim 5 α -DHT-Stoffwechsel eine deutlich erhöhte Metabolisierung zu 5 α -hydrierten Verbindungen.

Der Vergleich zwischen Normal- und Karzinomgewebe brachte für den Testosteronstoffwechsel keine signifikante Differenz. Einen statistisch auffälligen Unterschied ($\alpha < 0.05$) beobachteten wir beim 5 α -DHT-Stoffwechsel sowohl für 5 α - als auch für 5 β -hydrierte Metaboliten zugunsten des normalen Endometriumgewebes.

Betrachtet man die Ergebnisse über die Stoffwechselvorgänge im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe im gesamten, so ergibt sich die Möglichkeit eines Zusammenhanges zwischen Androgenstoffwechsel und Endometriumkarzinom.

6. Zusammenfassung

Wir untersuchten den in vitro-Stoffwechsel von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron im menschlichen Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe.

Das operativ gewonnene Gewebe wurde mit (1,2-³H)-Testosteron und (1,2-³H)-Dihydrotestosteron zwei Stunden lang bei 37°C in 3 ml Krebs-Ringer-Phosphatpuffer unter Zusatz von wasserstoffliefernden Enzymen inkubiert.

Zum Nachweis der entstandenen Androgenmetaboliten bedienten wir uns der Radiogaschromatographie, einer Methode, die mit geringsten Substratmengen auskommt.

Sowohl im Endometrium- als auch im Endometriumkarzinomgewebe fand ein Stoffwechsel von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron statt. Beim Testosteron- wie auch beim 5 α -Dihydrotestosteronstoffwechsel war der Umsatz im Normalgewebe höher.

Folgende Metaboliten fanden wir beim Testosteronstoffwechsel im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe: Δ^4 -Androstendion, 5 α -Dihydrotestosteron, Androsteron und 3 α -5 α -Androstandiol. Dabei wird Δ^4 -Androstendion vermehrt im Normalgewebe, 3 α -5 α -Androstandiol vermehrt im Karzinomgewebe gebildet. Die Differenzen sind statistisch auffällig.

Beim 5 α -Dihydrotestosteronstoffwechsel entstehen folgende Metaboliten: 3 α -5 α -Androstandiol, 5 α -3 β -Androstandiol, Androsteron und 5 α -Androstandion. Die beiden Androstandiole sind im Karzinomgewebe erhöht, die Differenz ist statistisch signifikant. Der Metabolit 5 α -Androstandion wird im Normalgewebe vermehrt gebildet, es besteht ein signifikanter Unterschied.

Aus diesen beim Testosteron- und 5 α -DHT-Stoffwechsel entstandenen Metaboliten kann man auf das Vorhandensein folgender Enzymsysteme im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe schließen: 17 β -Hydroxysteroiddehydrogenase, 5 α -Reductase, 3 α - und 3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase.

Der Abbau von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron zu 17-Ketosteroiden ist im Karzinomgewebe gegenüber dem Normalgewebe vermindert. Die Differenz ist für den Testosteronabbau statistisch auffällig, für den 5 α -Dihydrotestosteronabbau signifikant.

Dementsprechend ist der Abbau zu 17-Hydroxysteroiden sowohl beim Testosteron- als auch beim Dihydrotestosteronstoffwechsel im Karzinomgewebe erhöht.

Der Abbau von Testosteron und Dihydrotestosteron zu den aktiveren 5 α -hydrierten Metaboliten ist im Endometrium- und Endometriumkarzinomgewebe erhöht. Der Vergleich zwischen Normal- und Karzinomgewebe ergibt beim 5 α -Dihydrotestosteronstoffwechsel einen erhöhten Abbau zu 5 α - und 5 β -hydrierten Metaboliten im Normalgewebe.

7. Literaturverzeichnis

- (1) TAMM,J.: Der Testosteronstoffwechsel beim Menschen
Dtsch.Mes.Wschr. 92, 45: 2080-2068
(1967)
- (2) WOTIZ,H.H.,LEMON,H.M. and VOULGAROPOULOS,A.:
Metabolism of Testosterone by human
tissue slices
J.biol.Chem. 209: 437 (1954)
- (3) BREUER,H.,NOCKE,L. und PECHTHOLD,I.:
Stoffwechsel von Testosteron in
normalen und neoplastischen Geweben
des Menschen
Z.Vitamin- Hormon- und Fermentforsch.
10: 106 (1959/1960)
- (4) BULBROOK,R.D.,HAYWARD,J.L.,SPICER,C.C. and
THOMAS,B.S.: The urinary steroid
excretion of normal women and women
with advanced breast cancer
Lancet 2: 1235 (1962)
- (5) BULBROOK,R.D.,HAYWARD,J.L.,SPICER,C.C. and
THOMAS,B.S.: Abnormal excretion of
urinary steroids by women with early
breast cancer
Lancet 2: 1238-1241 (1962)
- (6) BULBROOK,R.D.,HAYWARD,J.L. and SPICER,C.C.:
Relation between urinary Androgen
and Corticoid excretion and subsequent
breast cancer
Lancet 2: 395 (1971)

- (7) BAANDERS, E.A., DE WAARD, F., MASTBOOM, J.L.,
TONKES, E. und MENISMA, L.:
Konstitutionelle und erbliche Aspekte
des Endometriumkarzinoms
Z.Geburtsh.Gynäkol. 161: 77-93 (1963)
- (8) DE WAARD, F., BAANDERS, E.A. and HUIZINGA, J.:
The bimodal age distribution of
patients with mammary carcinoma
Cancer 17: 141-151 (1964)
- (9) DE WAARD, F., THYSSEN, J.H.H., VEEMAN, W. and
SANDERS, P.C.:
Steroid hormone excretion pattern in
women with endometrial carcinoma
Cancer 22: 988-993 (1968)
- (10) SALL, S. and CALANOG, A.:
Steroid excretion patterns in post-
menopausal women with benign and
neoplastic endometrium
Am.J.Obstet.Gynecol. 114: 153-161 (1972)
- (11) CALANOG, A., SALL, S., GORDON, G.G., OLIVO, J. and
SOUTHREN, A.L.:
Testosterone metabolism in endometrial
cancer
Am.J.Obstet.Gynecol. 124: 60-63 (1976)
- (12) FOLLOW, K., LÜBBERT, H., BOQUOI, E., KREUTZER, G.,
JESKE, R. and FOLLOW, B.:
Studies on 17 β -Hydroxysteroid Dehydro-
genase in human endometrium and
endometrial carcinoma
Acta endocr. 79: 134-145 (1975)

- (13) HOFFMANN, U., MAASS, H. and LISBOA, B.P.:
Metabolism of (4-¹⁴C)-Testosterone in
the Rat Uterus in vitro
Eur.J.Biochem. 59: 305-312 (1975)
- (14) STAIB, W.: Der intrazelluläre Testosteronstoff-
wechsel
Referat, 13.Symposium Endokrinologie
- (15) BAULIEU, E.-E. and MAUVAIS-JARVIS, P.:
Studies on Testosterone metabolism.
II. Metabolism of Testosterone-4-¹⁴C
and Androst-4-en-3,17-dione-1,2-³H
J.Biol.Chem. 239, 1578 (1964)
- (16) NORTHCUTT, R.C., ISLAND, D.P. and LIDDLE, G.W.:
An explanation for the target organ
unresponsiveness to Testosterone in
the testicular feminisation syndrome
J.Clin.Endocr. 29, 422 (1969)
- (17) WIEDEMANN, M., RAITH, L. und KARL, H.J.:
Untersuchungen über die Adsorption von
Steroiden an Florisil und Amberlite.
Methode zur getrennten Bestimmung der
Glucuronide und Sulfate von Androgenen
Z.Anal.Chem. 252, 287 (1970)
- (18) PIERCE, A.E.: Silylation of organic compounds
Pierce Chemicals Co, Rockford/Illinois
(1968)
- (19) EIK-NES, K.B. and HORNING, E.C.:
Gas phase chromatography of steroids
Springer Verlag, Berlin (1968)

- (20) CHAMBAZ, E.M., MAUME, G., MAUME, B. and HORNING, E.C.:
Silylation of Steroids. Formation of
enol trimethylsilyl ethers and oxy-
silylation products
Anal. Letters 1, 12, 749 (1968)
- (21) UNTERBURGER, P.: Über den Abbau und die Konversion
von Testosteron in vitro durch Leber-
gewebe des Menschen
Dissertation, München (1973)
- (22) ENGELHARDT, D.: Hepatischer und extrahepatischer
Stoffwechsel von Testosteron beim
Menschen
Habilitationsschrift, München (1973)
- (23) HAHN, K.: In vitro-Untersuchungen über den Abbau
von Testosteron zu glucuroniierten
Metaboliten in der Leber des Menschen
Dissertation, München (1975)
- (24) ÜBERLA, K.: Biomathematik, Erläuterungen und
Lernhilfen
Universität München (SS 1975)
- (25) VON LINDERT, H., VAN LEUSDEN, A. and SIEMERINK, A.:
17 β -Dehydrogenase in human endometrium
Acta endocr. (Kbh.) Suppl. 155, 141
(1971)
- (26) ROSE, L.I., VANGALA, V.R. and BIONDI, R.:
Reduction of Testosterone to 5 α -
Dihydrotestosterone by human and
rat uterine tissues
J. Clin. Endocr. Metab. 46, 766 (1978)

- (27) LIPSETT, M.B.: Androgens in the female, in
Gynecologic Endocrinology by J. Gold
S.445 (1975)

Lebenslauf

- 11.12.51 geb. in Wiggensbach/Oberallgäu
Vater: Anton Salger, Landwirt
Mutter: Afra Salger, geb. Rauch
- 1958-1966 Besuch der Volksschule in Schmid-
reute, Gde. Wiggensbach
- 1966-1969 Landwirtschaftliche Kreisberufs-
schule in Kempten/Allgäu
- 1967-1970 Besuch der Berufsaufbauschule an der
Landw. Kreisberufsschule Kempten
Abschluß: Fachschulreife
- 1970-1973 Besuch des Bayernkollegs in Augsburg
Abschluß: Hochschulreife
- 1973-1979 Studium der Medizin an der Universität
München
- Oktober 79 Abschluß des Studiums und Approbation

